

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC

MÉMOIRE PRÉSENTÉ À
L'UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À TROIS-RIVIÈRES

COMME EXIGENCE PARTIELLE
DE LA MAÎTRISE EN SCIENCES DE L'ENVIRONNEMENT

PAR
STÉPHANE VILLENEUVE

IMPACT DE CONDITIONS VARIABLES SUR LA CROISSANCE ET LA SENSIBILITÉ AU
Bacillus thuringiensis SEROVAR. *israelensis* DE LARVES DE MOUSTIQUES
Aedes triseriatus (Say.)

JANVIER 2001

26

Université du Québec à Trois-Rivières

Service de la bibliothèque

Avertissement

L'auteur de ce mémoire ou de cette thèse a autorisé l'Université du Québec à Trois-Rivières à diffuser, à des fins non lucratives, une copie de son mémoire ou de sa thèse.

Cette diffusion n'entraîne pas une renonciation de la part de l'auteur à ses droits de propriété intellectuelle, incluant le droit d'auteur, sur ce mémoire ou cette thèse. Notamment, la reproduction ou la publication de la totalité ou d'une partie importante de ce mémoire ou de cette thèse requiert son autorisation.

RÉSUMÉ

Les récents cas d'encéphalites du Nil répertoriées dans l'état de New-York ont contribué à l'intérêt toujours grandissant que suscitent les moustiques. C'est principalement le genre *Culex* et quelques espèces d'*Anopheles* et d'*Aedes* qui peuvent en véhiculer le virus responsable. D'autres comme *Aedes triseriatus* sont très présents dans notre environnement et peuvent véhiculer le virus de La Crosse ou du Snowshoe Hare, provoquant d'autres encéphalites. Il s'est donc avéré important d'étudier certains facteurs agissant principalement sur cette dernière espèce soit la température, la densité et la nourriture disponible, afin de mieux se préparer à des interventions contre certaines de ses populations si cela devenait nécessaire.

Cette étude se divise en deux volets. Un premier visant à mesurer la durée du développement larvaire, le poids des adultes produits, et à connaître le pourcentage de mortalité larvaire et le sexe-ratio des individus en fonction de la densité larvaire et de la température retenues comme conditions d'expérimentation. Trois densités ont été utilisées soit 100, 200 et 400 larves par litre à des températures de 18, 23 et 28°C.

Le deuxième volet consiste à vérifier l'effet de *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* envers des larves se développant en milieux contrôlés. Trois densités de larves furent utilisées, 150, 450 et 900 larves par litre à des températures de 23 et 28°C. Après une période de cohabitation définie, ces larves furent utilisées dans la réalisation de bioessais.

Sous une température donnée, plus la densité augmente, plus le nombre de jours requis pour le développement augmente. Sous une densité donnée, plus la température augmente, plus le nombre de jours requis pour le développement diminue. Finalement, l'effet de la température s'est avérée presque deux fois plus élevé que celui de la densité sur le temps de développement. La température affecte de façon similaire les quatre premiers stades larvaires, excluant le

troisième. Le facteur « Densité » a engendré un effet très faible, exceptions faites des stades 3 et de nymphe.

Notre étude a révélé que la température et la densité ainsi que leur interaction n'influencent aucunement le pourcentage de mortalité. Pour le poids des mâles et femelles adultes, à une température constante, les résultats des poids ont peu varié d'une densité à une autre. La détermination du sexe n'a pas été influencée par la température et la densité. Aucune relation n'a pu être établie entre le sexe-ratio et les facteurs « température » et « densité larvaire ». Pour le deuxième volet expérimental, à 23°C, les larves élevées avec une nourriture en quantité moyennement limitée et en densité considérée élevée (450 lar./l) se sont avérées être les plus sensibles au *B.t.i.* A 28°C, c'est en conditions d'élevage favorables tant pour la quantité de nourriture (non limitative) et la densité (150 lar./l), que le *B.t.i.* a agi le plus efficacement envers les larves.

Finalement, il apparaît opportun de recommander qu'avant de traiter au *B.t.i.*, une vérification des densités larvaires sur le terrain soit faite afin de diminuer les doses et les coûts d'exploitation.

REMERCIEMENTS

Tout d'abord, je tiens à remercier le Dr Jean-Pierre Bourassa et le Dr Guy Charpentier pour avoir cru en mon projet et m'avoir si bien accepté dans leur laboratoire respectif. Je leur dois toute ma gratitude et ma reconnaissance pour l'expérience acquise avec eux dans ces années d'études bien remplies.

Je remercie également les biologistes passionnés de statistiques qui m'ont appris à traiter mes données, à me donner des connaissances encore plus solides et surtout à me faire apprécier les statistiques à leur juste valeur. Parmi ceux-ci, le Dr Louis Tessier qui m'a aidé dès le début de mon projet et le Dr Antoine Aubin qui m'a « enduré » dans son bureau pendant plusieurs séances et m'a suivi pendant une longue partie de mon projet. Mes remerciements sincères à ces deux personnes. Finalement, Jasmine Joncas, pour son sens critique envers mes résultats statistiques est assurée aussi de ma profonde estime.

Pour le support technique, je tiens à souligner l'apport des techniciens du Département de chimie-biologie de l'Université du Québec à Trois-Rivières, Jean-Louis Benoît et Natalie Godbout, technicienne au Laboratoire de Recherche sur les Arthropodes Hématophages.

Pour le support moral, la relecture de ce document et les commentaires pertinents, je remercie Jasmine Joncas, Annie Marineau, Antoine Aubin, sans oublier mes directeurs de maîtrise. Ce projet ne s'est pas effectué sans quelques embûches, mais ces années m'auront été sans contredit les meilleures que j'ai vécues au niveau de l'acquisition des connaissances.

TABLE DES MATIÈRES

	Page
RESUMÉ.....	i
REMERCIEMENTS.....	iii
TABLE DES MATIÈRES.....	iv
LISTE DES TABLEAUX.....	vii
LISTE DES FIGURES.....	ix
CHAPITRES	
1. INTRODUCTION.....	1
1.1 La problématique des moustiques et le cas d' <i>Aedes triseriatus</i>	1
1.2 Les dépôts de pneus.....	5
1.3 Les moyens de lutte chimique et biologique.....	6
1.4 Les facteurs à l'étude.....	10
1.4.1 La densité larvaire.....	10
1.4.2 La température.....	11
1.4.3 La nourriture.....	13
1.5 Les objectifs des présents travaux.....	14
1.6 Les résultats envisagés.....	15
1.6.1 Croissance des moustiques.....	15
1.6.2 Les bioessais avec <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>israelensis</i>	17
1.7 Les hypothèses nulles.....	17
1.7.1 Croissance des moustiques.....	17
1.7.2 Les bioessais avec <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>israelensis</i>	17
2. MATÉRIEL ET MÉTHODE.....	18
2.1 Protocole d'éclosion.....	18
2.2 Croissance des moustiques.....	18
2.2.1 Le montage.....	18

2.2.2	Justification du choix des densités et des températures.....	21
2.2.3	Protocole alimentaire.....	21
2.3	Bioessais avec <i>Bacillus thuringiensis var. israelensis</i>	21
2.3.1	Le montage.....	21
2.3.2	Justification du choix des densités et des températures.....	24
2.3.3	Protocole alimentaire.....	25
2.4	Statistiques.....	25
3.	RÉSULTATS.....	27
3.1	Temps moyen de développement.....	27
3.1.1	Analyses statistiques.....	27
3.1.2	Temps moyen de développement à 18, 23 et 28°C.....	28
3.1.3	Temps moyen de développement à 100, 200 et 400 larves par litre.....	29
3.2	Temps de développement de chaque stade larvaire.....	33
3.2.1	Analyses statistiques.....	33
3.2.2	Temps moyen de développement à 18, 23 et 28°C pour chaque stade larvaire,,.....	35
3.2.3	Temps moyen de développement à 100, 200 et 400 larves par litre pour chaque stade larvaire.....	36
3.3	Mortalité et analyses statistiques.....	39
3.4	Poids des moustiques adultes.....	42
3.4.1	Analyses statistiques.....	42
3.4.2	Moyennes des poids des mâles et des femelles à 18, 23 et 28°C.....	44
3.4.3	Moyennes des poids des mâles et des femelles à 100, 200 et 400 larves par litre.....	45
3.5	Répartition du sexe-ratio.....	49
3.6	L'effet de conditions variables de croissance sur l'efficacité du <i>B.t.i.</i>	49
4.	DISCUSSION.....	58
4.1	Temps moyen de développement.....	58
4.1.1	Temps moyen de développement des larves à 18, 23 et 28°C.....	60

4.1.2 Temps moyen de développement à 100, 200 et 400 larves par litre....	62
4.1.3 Interprétation de la régression linéaire.....	63
4.2 Temps de développement de chaque stade larvaire.....	63
4.2.1 Temps moyen de développement de chaque stade larvaire à 18, 23 et 28°C.....	64
4.2.2 Temps moyen de développement de chaque stade larvaire à 100, 200 et 400 larves par litre.....	64
4.2.3 Interprétation biologique des analyses statistiques.....	65
4.3 Mortalités.....	66
4.4 Poids des moustiques adultes.....	67
4.4.1 Moyennes des poids à 18, 23 et 28°C.....	67
4.4.2 Moyennes des poids à 100, 200 et 400 larves par litre.....	69
4.4.3 Interprétation biologique des analyses statistiques.....	70
4.5 Répartition du sexe-ratio.....	72
4.6 L'effet de conditions variables de croissance sur l'efficacité du <i>B.t.i.</i>	73
4.6.1 L'effet après 24 heures à 23°C.....	73
4.6.2 L'effet après 24 heures à 28°C.....	76
5. CONCLUSION.....	79
6. REFERENCES.....	82

LISTE DES TABLEAUX

	Page
Tableau I	Quantité de nourriture administrée par larve lors de l'élevage en bacs..... 25
Tableau II	Résultats de l'analyse de variance sur le temps moyen de développement 27
Tableau III	Temps moyens de développement comparés par température identique 32
Tableau IV	Temps moyens de développement comparés par densité identique 33
Tableau V	Pourcentages de mortalités exprimés à une température fixe sous 100, 200 et 400 lar./l..... 41
Tableau VI	Pourcentages de mortalités exprimés à une densité fixe sous 18, 23 et 28°C 41
Tableau VII	Résultats de l'analyse de variance sur le pourcentage de mortalité 42
Tableau VIII	Résultats de l'analyse de variance sur le poids des moustiques 43
Tableau IX	Différences significatives entre les poids moyens aux différentes températures chez les mâles et les femelles d' <i>Aedes triseriatus</i> 48
Tableau X	Différences significatives entre les poids moyens aux différentes densités larvaires chez les mâles et les femelles d' <i>Aedes triseriatus</i> 48

Tableau XI	CL ₅₀ à 23 et 28°C après 24 heures d'exposition au <i>B.t.i.</i>	51
Tableau XII	Tests de parallélisme sous 23 et 28°C après 24 heures	57
Tableau XIII	Tests de parallélisme comparant les densités identiques sous des températures différentes après 24 heures	57
Tableau XIV	Jours obtenus comparés aux résultats de Jalil (1972)	59
Tableau XV	Jours totaux obtenus comparés aux résultats de Tsuda (1997) sur <i>Ae. albopictus</i>	60
Tableau XVI	Pourcentages de mortalités obtenus comparés aux résultats de Rueda (1990) sur <i>Ae. aegypti</i>	67
Tableau XVII	Poids obtenus comparés aux résultats de Rueda (1990) sur <i>Ae. aegypti</i>	69

LISTE DES FIGURES

		Page
Figure 1	Aire de distribution d' <i>Aedes triseriatus</i>	2
Figure 2	Virus de La Crosse en microscopie électronique, avec la technique de coloration négative	4
Figure 3	<i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>israelensis</i> en sporulation (fig. A) et avec ses inclusions toxiques (fig. B)	7
Figure 4	Cages d'élevage des moustiques de l'espèce <i>Aedes triseriatus</i>	19
Figure 5	Larves d' <i>Aedes triseriatus</i>	22
Figure 6	Valeurs observées du temps de développement moyen à 18 (fig. A), 23 (fig. B) et 28°C (fig. C) et leurs pentes de régression chez <i>Aedes triseriatus</i>	30
Figure 7	Valeurs observées du temps de développement moyen à 100 (fig. A), 200 (fig. B) et 400 lar./l (fig. C) et leurs pentes de régression chez <i>Aedes triseriatus</i>	31
Figure 8	Temps de développement pour chacun des stades d' <i>Aedes triseriatus</i> à 18 (fig. A), 23 (fig. B) et 28°C (fig. C).....	37
Figure 9	Temps de développement pour chacun des stades d' <i>Aedes triseriatus</i> à 100 (fig. A), 200 (fig. B) et 400 (fig. C) larves par litre	38
Figure 10	Répartition du pourcentage de mortalité en fonction des traitements expérimentaux	40
Figure 11	Valeurs observées des poids moyens des mâles et femelles d' <i>Aedes triseriatus</i> à 18 (fig. A), 23 (fig. B) et 28 (fig. C) °C et leurs pentes de régression.....	46

Figure 12	Valeurs observées des poids moyens des mâles et femelles d' <i>Aedes triseriatus</i> à 100 (fig. A), 200 (fig. B) et 400 (fig. C) larves par litre et leurs pentes de régression	47
Figure 13	Répartition du sexe-ratio selon les densités à 18, 23 et 28°C.....	50
Figure 14	Relation linéaire entre le pourcentage de mortalité corrigée et la concentration de <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>israelensis</i> ; larves de troisième stade élevées à 150, 450 et 900 lar./l et exposées au <i>B.t.i.</i> pendant 24 heures à une densité de 25 lar./100 ml à 23°C.....	52
Figure 15	Relation linéaire entre le pourcentage de mortalité corrigée et la concentration de <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>israelensis</i> ; larves de troisième stade élevées à 150, 450 et 900 lar./l et exposées au <i>B.t.i.</i> pendant 24 heures à une densité de 25 lar./100 ml à 28°C.....	53
Figure 16	Relation linéaire entre le pourcentage de mortalité corrigée et la concentration de <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>israelensis</i> ; larves de troisième stade élevées à 150 lar./l et exposées au <i>B.t.i.</i> pendant 24 heures à une densité de 25 lar./100 ml à 23 et 28°C	54
Figure 17	Relation linéaire entre le pourcentage de mortalité corrigée et la concentration de <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>israelensis</i> ; larves de troisième stade élevées à 450 lar./l et exposées au <i>B.t.i.</i> pendant 24 heures à une densité de 25 lar./100 ml à 23 et 28°C	55
Figure 18	Relation linéaire entre le pourcentage de mortalité corrigée et la concentration de <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>israelensis</i> ; larves de troisième stade élevées à 900 lar./l et exposées au <i>B.t.i.</i> pendant 24 heures à une densité de 25 lar./100 ml à 23 et 28°C	56

INTRODUCTION

1.1 La problématique des moustiques et le cas d'*Aedes triseriatus*

Les moustiques sont des diptères à l'allure inoffensive, mais sous leur petite taille se cachent des dangers pouvant se répercuter en lourdes pertes de vies humaines. Le moustique est vecteur de graves maladies tels le paludisme (anciennement dénommée malaria), la filariose, la dengue et des arboviroses.

Mis à part les cas de paludisme enregistrés principalement dans les régions chaudes du globe dont l'Afrique qui est la plus touchée, il n'y a pas lieu de s'inquiéter quant à la transmission de cette maladie sous nos latitudes même si elle a été et demeure une des affections les plus destructrices de l'humanité (Becker, 1991). Actuellement, c'est plutôt l'espèce *Ae. triseriatus* qui retient l'attention des chercheurs en Amérique du Nord. L'habitat naturel d'*Ae. triseriatus* est constitué de creux de troncs d'arbres ou dendrothelmes, d'où son appellation anglophone de « Tree Hole Mosquito ». Son aire de répartition (Fig. 1) s'étend de la Floride jusqu'au sud du Québec et de l'Ontario couvrant tous les autres états de l'est jusqu'au centre du Dakota et du Texas (Darsie et Ward, 1981).

Ce moustique se développe aussi dans divers réceptacles artificiels (boîtes de conserves, pneus abandonnés, etc.) retrouvés dans les forêts ou à proximité des habitations (Acha et Szyfres, 1989). Des études effectuées sur les microcosmes des moustiques, ont montré que les larves d'*Ae. triseriatus* se nourrissent de microorganismes à la surface des feuilles mortes et d'autres matières végétales en décomposition.

Cette espèce est vectrice et hôte principal du virus de La Crosse (VLC) dans le centre-ouest des États-Unis provoquant l'encéphalite californienne (Mitchell *et al.*, 1998).

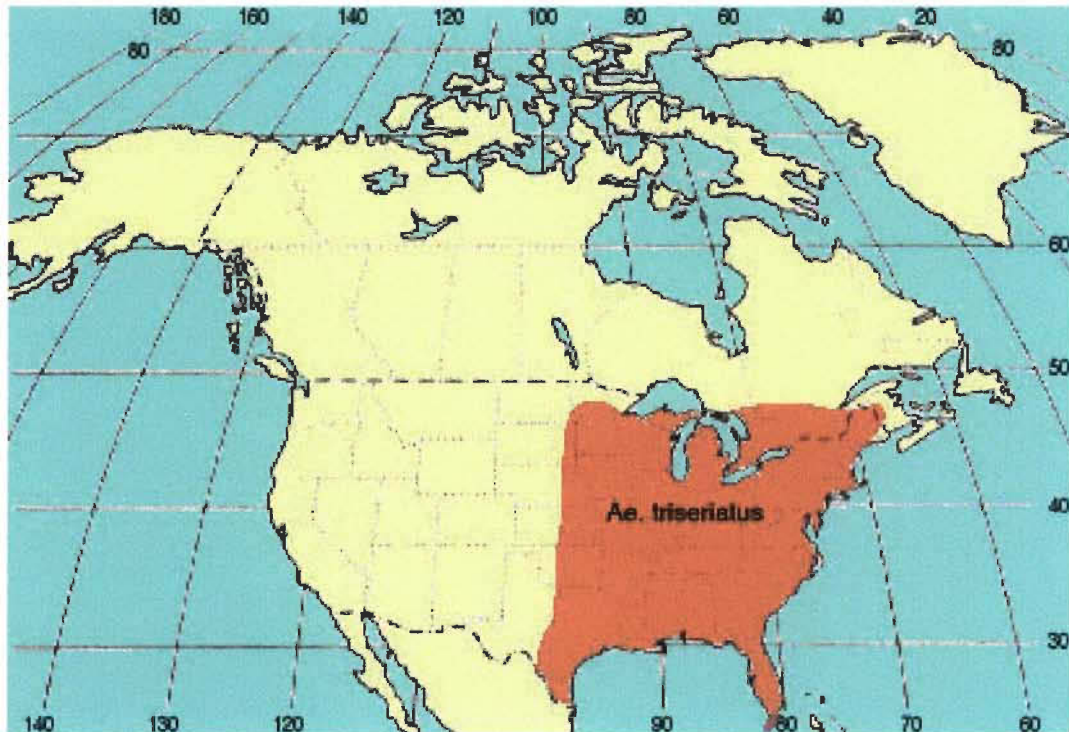


Figure 1. Aire de distribution d'*Aedes triseriatus*.

Image utilisée avec la permission de Walter Reed Biosystematics Unit,
Department of Entomology, Walter Reed Army Institute of Research,
Washington, DC 20307-5100.

Ce virus (Fig. 2) est retrouvé dans 13 états à l'est de la rivière Mississippi. L'encéphalite engendrée affecte plus particulièrement les jeunes de moins de 15 ans et plus particulièrement les enfants (Acha et Szyfres, 1989). Aucune thérapie spécifique n'est connue. Le taux de mortalité atteint rarement plus de 1%. La plupart des patients peuvent traverser la maladie sans séquelles.

Des anticorps du VLC ont déjà été détectés chez des jeunes âgés entre 7 et 17 ans sur la réserve indienne de Cherokee en Caroline du Nord, en 1968, 1978 et 1979. En 1996, des cas de séropositivité au VLC ont également été trouvés pour une occurrence de 20.6% dans les échantillons de sérum provenant de la réserve contrairement à 4.7% lorsque l'on y échantillonne à l'extérieur (Szumlas *et al.*, 1996). A ce jour, aucun cas de VLC a été rapporté au Canada. Le Snowshoe Hare Virus (SSH), un autre virus du séro groupe Californie est le plus présent et répertorié partout au Canada jusqu'en Alaska (Santé Canada, 1996). Au Québec, il est uniformément très répandu (Bourassa *et al.*, 1992). Il causerait l'encéphalite californienne sous nos latitudes. Il a été isolé à Entrelacs dans la région des Laurentides au Québec et des anticorps contre le SSH se sont développés chez des lapins mis en cage dans cette région (Belloncik *et al.*, 1982). Des anticorps contre l'encéphalite de St-Louis et l'encéphalite équine de l'est ont également été développés et trouvés chez des lapins sentinelles et d'autres mammifères dans la région de Trois-Rivières (Belloncik *et al.*, 1983). Ces deux dernières encéphalites sont véhiculées par plusieurs espèces de moustiques excluant *Ae. triseriatus*.

Finalement, un virus émergent et pathogène chez les ruminants a fait son apparition récemment sur le continent Nord américain. Il s'agit du Cache Valley Virus (CV), du séro groupe des Bunyaviridae, et qui est la cause majeure d'infections utéro-fœtales, de malformations et de morts fœtales pouvant causer de lourdes pertes économiques aux éleveurs. Ce virus est également la cause de malformations congénitales et d'encéphalites fatales chez les humains. On a démontré en laboratoire que *Ae. triseriatus* est vecteur du Cache Valley Virus,

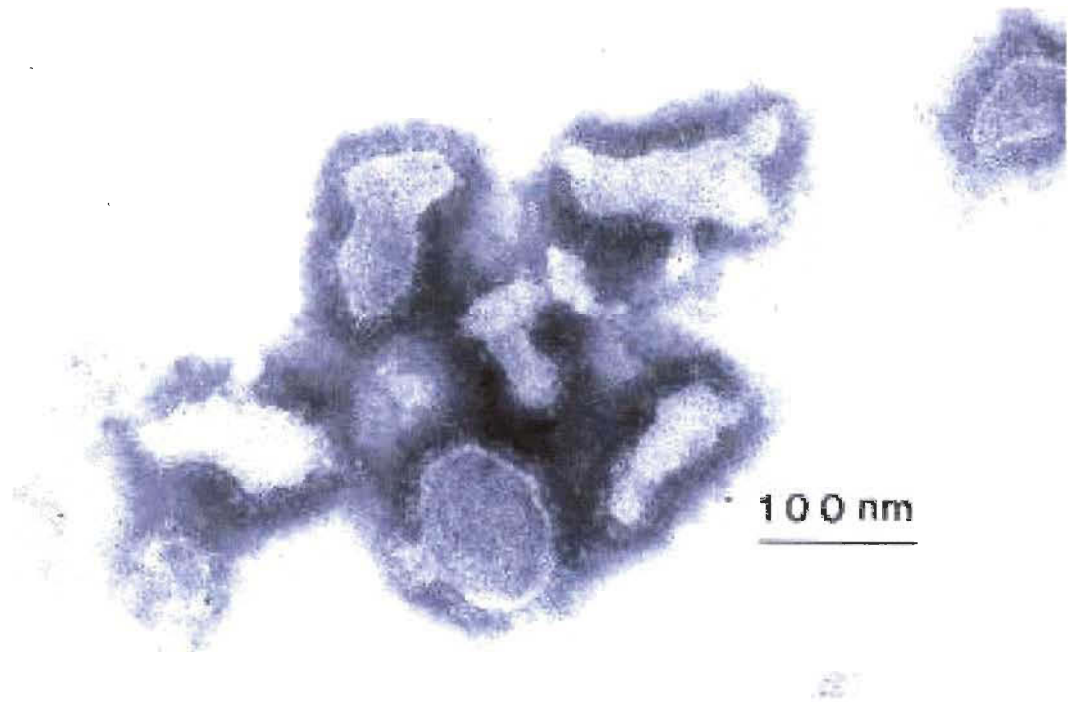


Figure 2. Virus de La Crosse en microscopie électronique, avec la technique de coloration négative.

Image utilisée avec la permission du Wadsworth Center-New York State, Department of Health.

mais cette espèce n'est pas reconnue comme étant un hôte du virus en conditions naturelles. Si le virus s'établissait sur notre territoire, *Ae. triseriatus* pourrait s'avérer un hôte potentiel (Edwards *et al.*, 1998).

1.2 Les dépôts de pneus

Les dépôts de pneus abandonnés ou entreposés à aire ouverte sont des habitats utilisés par certains moustiques comme site de reproduction et de développement (Gettman et Hall, 1989; Craig, 1983; Belzile, 1991; Bourassa *et al.*, 1992; Undeen et Becnel, 1994). L'eau accumulée dans les pneus est favorable à la bonne croissance des larves de moustiques. Ces dernières années, leurs empilements constituent un problème environnemental sérieux dans les dépotoirs de déchets solides en Amérique du Nord (Morris et Robinson, 1994). Plus de la moitié des 250 millions de pneus rejetés annuellement aux États-Unis sont disposés dans les dépotoirs spécifiques à cet effet ou dans des remblais.

Afin de contrer ce problème, les pneus peuvent être grossièrement coupés ou mis en lambeaux. Cependant, des œufs viables de moustiques peuvent éclore dans ces pneus en dépit de cette disposition. Il a été démontré que 4.6% des œufs d'*Ae. albopictus* et 2.7% des œufs d'*Ae. triseriatus* ont pu échapper au déchiquetage grossier des pneus (Hanson *et al.*, 1996). Ce processus demeure ainsi un moyen de dispersion en nature pour ces espèces et l'ampleur en est difficile à évaluer lorsque les pneus sont transportés d'une région à l'autre, d'un pays à l'autre ou même d'un continent à l'autre (Hanson *et al.*, 1996). Un fait à noter est que les ressources alimentaires abondantes et l'oviposition sélective expliquent probablement pourquoi la densité d'*Ae. triseriatus* est trois fois plus élevée dans les pneus disposés à l'ombre que dans ceux exposés au soleil (Beier *et al.*, 1983).

Au Québec, 25 millions de pneus sont entreposés dans les dépôts (Société québécoise de récupération et de recyclage, 1999). Depuis 1993, un programme de récupération de pneus

usés est instauré dans la province. Le programme, relevant du Ministère de l'Environnement du Québec a pour principal objectif de diriger vers l'industrie du rechapage, du recyclage et de la valorisation énergétique les pneus hors d'usage. Il a pour but de diminuer leur enfouissement et leur entreposage. Puisque 7.2 millions de pneus sont achetés annuellement au Québec, il s'avérerait essentiel de disposer d'un tel programme. Environ 5% des pneus ne sont pas revalorisés mais conservés ou enfouis; ainsi 350 000 pneus s'accumulent chaque année procurant aux moustiques des gîtes de reproduction (Société québécoise de récupération et de recyclage, 1999).

1.3 Les moyens de lutte chimique et biologique

Les gîtes créés constituent pour les moustiques un lieu de ponte rendant la présence de ces diptères désagréable au cours des activités extérieures tant en milieu rural qu'en milieu urbain (Nadeau, 1990). Elaborées au tout début pour lutter contre le paludisme, des méthodes chimiques ont été retenues pour lutter contre ces moustiques. Les carbamates font partie d'une famille d'insecticides particulièrement utiles comme adulticides alors que les pyréthroïdes synthétiques sont efficaces comme larvicides et adulticides (Priest, 1992). L'utilisation de ces insecticides chimiques peut toutefois causer de graves préjudices à l'environnement. Ces atteintes ont favorisé la recherche de produits moins dommageables. C'est à la fin des années cinquante qu'apparaissent les premières formulations commerciales de *Bacillus thuringiensis*, dont la Bactospéine, issues notamment des travaux de recherche de l'Institut Pasteur et de l'INRA de France afin de contrer les larves de certains lépidoptères (Coombs, 1993). La découverte du *Bacillus thuringiensis* variété *israelensis*, en 1976 par Margalit et Goldberg en Israël, a permis de lutter de façon plus écologique contre les larves de plusieurs diptères nuisibles (Goldberg et Margalit, 1977).

Le *B.t.i.* est une bactérie gram positif et aérobique (Fig. 3). Lors de la sporulation, il y a

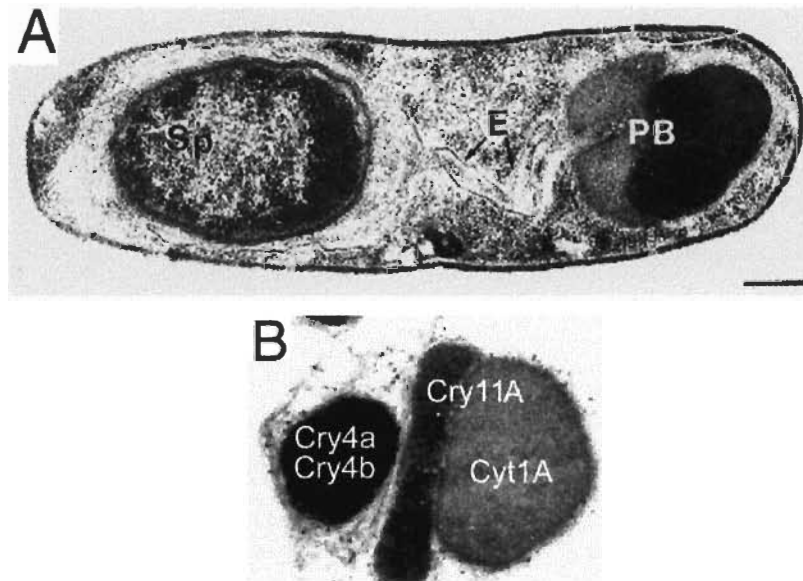


Figure 3A. *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* en sporulation.

Légende : Sp : spore, E : exosporium, PB : corps parasporal.

Figure 3B. *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* et ses inclusions toxiques.

Image utilisée avec la permission du Dr Brian Federici de l'Université de Californie, Riverside.

formation d'un cristal protéique parasporal. Certaines substances de ce cristal, les δ -endotoxines, sont toxiques pour certaines espèces d'insectes (Rivard *et al.*, 1989). Certains gènes, notamment les cryIV A, cryIV B, cryIV C et cryIV D, codent pour des protéines spécifiquement toxiques à certaines espèces de diptères (Höfte et Whiteley, 1989). L'action protéolytique, déclenchée par l'effet du pH et des protéases alcalines, relâche des fragments toxiques. Les récepteurs spécifiques sur les cellules en brosse de l'épithélium de l'intestin moyen acceptent les fragments toxiques des protéines du cristal qui engendreront la lyse cellulaire suivie d'une perforation de l'intestin, entraînant la mort rapide de l'insecte touché. (Aronson, 1994; Gill *et al.*, 1992; Priest, 1992).

Les études relatives aux insecticides à base de *B.t.* n'ont pas permis de découvrir d'effets néfastes majeurs sur la santé humaine et des vertébrés. Certaines familles d'invertébrés sont plus susceptibles aux effets du *B.t.i.* Par exemple, une étude sur vingt-trois espèces d'organismes aquatiques exposées à des formulations de *B.t.i.*, autres que des moustiques, n'a révélé aucune mortalité, sauf pour *Chironomus matorus* (Diptera : Chironomidae) et une espèce de *Simulium* (Diptera : Simuliidae) qui a un degré de susceptibilité semblable aux doses utilisées pour les moustiques (Garcia *et al.*, 1982).

Egalement, une étude vérifiant l'effet de l'insecticide sur les invertébrés dans deux cours d'eau de l'Île du Prince Édouard lors de traitements à haute concentration, a montré que les Chironomidés sont touchés par l'insecticide, ces derniers constituant une part importante de l'alimentation du saumon dans ces régions (McCracken et Matthews, 1997). Cependant, les auteurs mentionnent que même si les quantités de chironomides augmentent dans les dérives (ils les considèrent alors comme des individus morts), il arrive que certains individus soient affectés par le *B.t.i.*, sans toutefois en mourir, et se raccrochent plus loin sur la rive. De plus, une espèce de *Blepharicera* de la famille des Blephariceridae a été rapportée comme étant sensible au *B.t.i.* (Back *et al.*, 1985). Lorsque l'espèce *Tipula abdominalis* (Diptera : Tipulidae)

a reçu plus de 50 fois la dose normale et qu'*Arthroplea bipunctata* (Ephemeroptera : Heptageniidae) a reçu plus de 500 fois la dose normalement appliquée sur le terrain (22.5 mg/l de *B.t.i.* pendant 1 minute), ces espèces présentent des mortalités (Wipfli et Merritt, 1994).

Dans leur revue de littérature portant sur les effets du *B.t.i.* envers les organismes cibles et non-cibles, Boisvert et Boisvert (2000) ont conclu que 37 études sur les 75 répertoriées, montraient que quelques organismes non-cibles pouvaient être affectés jusqu'à un certain point par les traitements. En plus des chironomides (Diptera : Chironomidae) contre lesquels un effet a été démontré, plusieurs autres organismes dont les espèces de 7 autres familles de nématocères (Diptera), de 9 ordres d'invertébrés, de 4 familles de poissons et de 2 espèces d'algues, ont été affectés directement ou indirectement par les formulations de *B.t.i.* sans que les toxines en soit forcément responsables.

Que ce soit en milieu lotique, lentique ou en laboratoire, plus de 35 % des études démontrant un effet ont été produites dans des conditions opérationnelles de traitement et non dans des conditions de surdosage comme la majorité des études. Les effets observés sur les organismes étudiés sont discutables et la prudence s'impose dans l'interprétation de ces résultats tels que mentionnés par les auteurs eux-mêmes. En effet, plusieurs facteurs peuvent avoir influencé les résultats rapportés, tels que des erreurs d'échantillonnage, des erreurs au niveau de la méthodologie expérimentale, l'absence de témoins, les ingrédients inertes présents dans les formulations, etc.

Dès les premières utilisations de *B.t.* (variété *kurstaki*), la résistance face au produit était envisageable. Des applications massives du produit ont mené à l'émergence de populations d'insectes résistants; la teigne des crucifères à Hawaï et le doryphore de la pomme de terre en Floride et dans l'état de New-York en sont des exemples (Tabashnik, 1994). Le premier insecte chez lequel une telle résistance a été démontrée est un lépidoptère ravageur en agriculture. *Plodia interpunctella*, la teigne des fruits secs, aurait le premier développé une résistance à la

delta endotoxine du *B.t.* (McGaughey, 1989), alors que d'autres auteurs retiennent *Plutella xylostella*, la teigne des crucifères (Tabashnik *et al.*, 1990). Selon d'autres rapports, des insectes résistants au *B.t.* sont maintenant retrouvés dans les cultures au Japon, aux Philippines, en Thaïlande et à Taiwan (Tabashnik, 1994; Tabashnik *et al.*, 1994; Tabashnik *et al.*, 1990).

Le problème de la résistance s'applique également au *B.t.i.* Pour éviter une forte émergence de ce problème, les doses homologuées doivent être bien respectées. L'utilisation de programmes de lutte intégrée impliquant d'autres agents biologiques comme des champignons (Nadeau et Boisvert, 1994), des virus ou des poissons larvivores peuvent aider à minimiser la résistance au *B.t.i.* (Priest, 1992).

Afin de contrer plus efficacement la nuisance causée par les moustiques, tout en étant soucieux des doses utilisées pour éviter l'apparition de la résistance encore non répertoriée chez les moustiques (Tabashnik, 1994), la connaissance des facteurs liés au développement larvaire s'avère essentielle; la densité larvaire, la température de développement et les quantités de nourriture auxquelles les larves ont accès sont les facteurs prédominants. La profondeur de l'eau et la salinité sont parfois des facteurs à considérer dépendamment de l'espèce. Sur le terrain, tous ces facteurs interagissent de façon complexe pour déterminer le taux de développement (Clements, 1992).

1.4 Les facteurs à l'étude

1.4.1 La densité larvaire

Pour diminuer les doses d'insecticides biologiques et par la même occasion retarder les phénomènes de résistance, l'approfondissement des connaissances sur l'effet de la densité larvaire, i.e. le nombre de larves par ml d'eau, est d'un apport important. La densité joue un rôle notable dans le taux de développement larvaire des moustiques, et par le fait même peut influencer l'occurrence et la qualité de la transmission de maladies. La densité larvaire affecte

également, chez plusieurs espèces, le temps de développement, le succès des larves atteignant le stade de nymphe et le poids des nymphes. Un manque d'apport de ressources alimentaires peut également contribuer à créer ces effets (Clements, 1992).

Lorsque différentes cohortes cohabitent ensemble, la densité larvaire de moustiques et la quantité de liquide rencontrées dans les conditions naturelles produisent des effets sur le poids corporel des femelles, sur le temps de développement et sur le taux de survie à partir du stade larvaire jusqu'au stade adulte (Livdahl, 1982). En laboratoire, chez *Culex pipiens fatigans*, la densité larvaire et la quantité de nourriture donnée par larve ont influencé significativement la taille des adultes qui ont émergé (Ikeshoji, 1965). Une étude portant sur l'assèchement de l'habitat d'*Ae. triseriatus* (Juliano *et al.*, 1994) mentionne que les moustiques de petite taille et au développement larvaire lent sont probablement obtenus à cause de l'effet possible des différentes densités. Nous allons donc chercher des réponses à l'aide de l'utilisation de différentes densités et y étudier son effet sur les larves d'*Ae. triseriatus*.

1.4.2 La température

Un facteur affectant la taille et le poids des adultes est la température sous laquelle croissent les larves. Au-delà d'une température limite, le taux de croissance des larves d'*Ae. triseriatus* augmente pour ensuite décliner lorsque la température optimale est dépassée (Jalil, 1972).

La taille de toutes les espèces de moustiques est génétiquement déterminée, et pour plusieurs espèces des variations intraspécifiques peuvent être modulées chez les adultes par plusieurs facteurs environnementaux dont entre autres, la température et la qualité de l'eau et de son habitat (Clements, 1992). Une étude montre que les femelles d'*Ae. triseriatus* de forte taille paraissent en meilleure condition et sont plus aptes à pondre fréquemment (Haramis, 1983; Nasci, 1988). Chez des moustiques privés de nourriture au stade larvaire, les individus de petite

taille se sont avérés de meilleurs vecteurs du virus de La Crosse (Grimstad et Haramis, 1984). Quoique les moustiques de petite taille seraient de meilleurs vecteurs de virus, leur survie est plus faible à cause de la dessiccation rapide due à leur taille (Haramis, 1985). Les quelques études portant sur *Ae. triseriatus* et l'effet de la taille sur la capacité à transmettre les virus, ont révélé que ce sont les femelles de petite taille qui transmettent significativement mieux le virus de La Crosse (Grimstad et Walker, 1991; Paulson et Hawley, 1991; Patrician et DeFoliart, 1985). Nasci (1986) a déterminé que les moustiques de forte taille de quelques genres et espèces de moustiques contribuent à propager, à maintenir et à amplifier certains virus. En effet, l'auteur a noté que l'augmentation de la taille accroît le taux de transmission virale.

Un plus haut pourcentage de femelles pares (ayant pris un repas sanguin et ayant pondu) dans une population indiquerait que les femelles de large taille ont des contacts avec l'hôte résultant de repas sanguins achevés. Par exemple, chez *Ae. aegypti*, une proportion significativement plus élevée de moustiques femelles de large taille est plus fréquemment infectée du virus de la dengue que les femelles de taille intermédiaire ou faible (Sumanochitrapon, 1998).

Walker *et al.* (1987) ont démontré que la taille n'a aucun effet sur la survie du moustique contrairement à ce que Nasci (1988) a démontré, notamment que les femelles de large taille détiennent le taux de survie le plus élevé et que cette taille leur confère également l'aptitude à pondre à plus d'une reprise.

Lors d'épandages de *B.t.i.*, les températures doivent être élevées afin de causer une mortalité élevée. En effet, il a été observé que la mortalité augmente, chez deux espèces de mouches noires soit *Simulium decorum* et *Prosimulium mixtum-fuscum*, avec l'augmentation de la durée d'exposition, de la concentration, de la température et du pH. La dose de *B.t.i.* requise pour causer de la mortalité larvaire chez les Simulidés est inversement proportionnelle à la température de l'eau (Lacoursière et Charpentier, 1988).

Peu d'études portant sur l'effet du *B.t.i.* en rapport avec la densité ont été publiées (Farghal *et al.*, 1983; Vorgetts *et al.*, 1988). Ces études ont révélé un effet très faible de la densité sur les deux espèces étudiées et nous avons décidé d'approfondir le sujet avec une espèce présente sur notre territoire.

1.4.3 La nourriture

Les larves de moustiques sont capables de survivre à un manque de nourriture pour une période s'étalant de quelques jours dans les contenants artificiels permanents ou temporaires, à plusieurs semaines ou même plusieurs mois pour celles colonisant les contenants naturels. De plus, on remarque que le taux respiratoire des larves décroît rapidement suivant une privation de nourriture sur une longue période (Barrera, 1996).

Chez l'adulte, l'endurance ou la capacité à survivre à un manque de nourriture est principalement fonction des réserves accumulées et du type d'alimentation reçue au cours de la vie larvaire (Gilpin et McClelland, 1979). De plus, la nourriture en quantité limitée peut entraîner l'apparition de compétitrices ou de survivantes beaucoup plus combatives envers ses semblables et prédateurs et cela chez les larves d'espèces capables d'accumuler plus de réserves (Barrera, 1996).

Chez *Ae. aegypti*, les larves privées de nourriture après avoir atteint leur poids critique (poids minimum requis pour que la larve puisse effectuer sa métamorphose) complètent leur développement la majorité du temps. Ces poids critiques chez *Ae. aegypti* à 22°C sont respectivement pour les mâles et les femelles de 2.63 mg et 1.91 mg. Toutefois, si les larves sont privées de nourriture avant d'avoir atteint ce poids critique, elles mourront à l'état larvaire (Chambers et Klowden, 1990). Chez *Ae. albopictus*, en conditions de laboratoire et en conditions semi-naturelles, la quantité de larves par ml d'eau et la quantité de nourriture affectent le développement larvaire et le taux de survie des adultes (Lord, 1998).

Lors des bioessais en laboratoire utilisant le *B.t.i.*, la source de nourriture causant la mortalité chez les larves est le cristal de cette bactérie. Si on présente le broyat de larves survivantes et mortes ayant été exposées au *B.t.i.* à des larves saines, aucune toxicité n'est remarquée (Sinègre *et al.* 1981), mais il arrive parfois qu'une toxicité survienne (Aly, 1985; Aronson, 1994). Sur le terrain, les dosages doivent être calculés en fonction de la superficie à traiter et non en fonction du volume d'eau. Ils doivent également être calculés en fonction de la sédimentation de la matière active de l'insecticide biologique (Sinègre *et al.*, 1981). Il est à noter que les particules en suspension dans le milieu vont compétitionner avec les cristaux de *B.t.i.* lors de la prise de nourriture.

1.5 Les objectifs des présents travaux

Le premier objectif de ce mémoire est de mesurer la durée de chacun des stades larvaires, le « temps moyen de développement » larvaire, le poids des adultes, le pourcentage de mortalité larvaire et le sexe-ratio, tout cela en fonction de la densité larvaire et de la température. Le « temps moyen de développement » est la durée en jours, de l'éclosion au stade adulte des moustiques. La durée est calculée en retenant le temps total des réplicats de chacune des combinaisons expérimentales pour en faire une moyenne. Jalil (1972) fut le seul à établir une table de vie et de mortalité des stades immatures d'*Ae. triseriatus* sous différentes températures. Belzile (1991) a mené une étude sur l'effet de la densité et de la température sur le développement larvaire et de la taille adulte d'*Ae. triseriatus*. Ces deux dernières études ont cependant des différences majeures avec la nôtre principalement en ce qui concerne la méthodologie.

La contribution de mon étude vise à comparer et valider les résultats par l'utilisation de températures et de densités différentes de celles utilisées par Belzile (1991) ainsi qu'à l'ajout du facteur « densité » inexistant dans l'expérience de Jalil (1972). Deux des trois températures

utilisées sont plus élevées que celles de Belzile permettant de parfaire les connaissances face à ces stimuli supplémentaires. Les densités privilégiées sont relativement proches de celles de Belzile puisqu'elles sont normalement rencontrées dans les biotopes naturels. Les données de la présente étude combinées aux études existantes aideront à mieux interpréter la sensibilité rencontrée par *Ae. triseriatus* face à certains facteurs environnementaux. Notre étude contribuera à prédire la durée de chacun des stades larvaires et la durée totale de développement à l'aide d'équations de régressions et permettra d'anticiper les réactions d'*Ae. triseriatus* vivant sous des températures et des densités variables en vue d'éventuelles opérations de lutte biologique ou d'élevage en laboratoire.

Notre second objectif est d'étudier l'influence de stress appliqués à des larves d'*Ae. triseriatus*, pendant leur croissance, sur l'activité larvicide d'un insecticide biologique, le *B.t.i.*. L'effet de densités larvaires variables sur l'efficacité du *B.t.i.* envers des larves d'*Ae. aegypti* a intéressé certains auteurs qui en sont venus à la conclusion que la mortalité était fonction seulement de la concentration de *B.t.i.* (Vorgetts *et al.*, 1988). Cependant, aucun stress ne leur était imposé avant leur introduction dans les récipients pour les bioessais. Comme la quantité de nourriture joue un rôle primordial et influence le succès de la vie larvaire (Carpenter, 1983; Belzile, 1991) et que la densité est reconnue comme un facteur influençant la croissance chez plusieurs espèces, cette étude permettra de vérifier l'action du *B.t.i.* sur des larves stressées à divers degrés autant par la densité que par une limite d'accès à la nourriture lors de leur élevage.

1.6 Les résultats envisagés

1.6.1 Croissance des moustiques

Pour le temps de développement moyen total chez *Ae. triseriatus*, nous prévoyons observer un effet de la densité ou de la température ou même de l'interaction de ces deux

derniers facteurs sur la durée de développement des larves. Selon les patrons retrouvés chez la plupart des organismes, nous pouvons estimer que plus la densité sera grande ou la température basse, plus le temps de développement devrait s'allonger.

Nous attendons qu'un effet de la température ou de la densité ou de leur combinaison sur le temps de développement relatif à chacun des stades sera démontré par un changement dans la durée des stades. Plus la densité sera grande ou la température basse, plus le temps de chacun des stades de développement d'*Ae. triseriatus* devrait s'allonger.

Suite aux mortalités pouvant survenir tout au long des expériences, nous voulons savoir si elles auront comme cause la densité, la température ou l'interaction densité - température. A la lecture de la littérature, les deux facteurs jouent des rôles importants sur le développement de plusieurs espèces de moustiques, et nous estimons que la mortalité serait influencée à la fois par la densité et la température. Plus précisément, plus la température et la densité augmenteront, plus la mortalité envisagée devrait être grande.

Concernant le poids des moustiques adultes, nous estimons qu'il y aura l'effet d'au moins d'un de ces facteurs : la température, la densité ou le sexe (facteur additionnel pour cette partie d'expérimentation) ou d'une interaction double ou triple entre ces facteurs. Le sexe devrait avoir l'effet le plus important, car les femelles sont habituellement plus lourdes. Nous ne pouvons toutefois estimer quel facteur serait prédominant entre la température et la densité.

Finalement, le nombre de mâles et de femelles sera compté pour vérifier si le sexe-ratio est indépendant de la densité larvaire, de la température ou d'une combinaison densité larvaire - température. Nous prévoyons que le sexe montrera, comme dans la plupart des études, un ratio de 1:1 sauf à température élevée (28°C) où le sexe-ratio chez certains *Aedes*, influencé par les gènes, change en faveur des femelles (Clements, 1992).

1.6.2 Les bioessais avec *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*

Nous prévoyons que les larves se développant sous des densités de 150, 450 et 900 lar./l respectivement jumelées à des quantités très faibles, faibles et suffisantes de nourriture à 23 et 28°C, seront variablement sensibles à l'efficacité de l'insecticide *B.t.i.* Cette efficacité devrait augmenter lorsque les larves seront soumises à des conditions de développement défavorables et diminuer en conditions de développement favorables.

1.7 Les hypothèses nulles

1.7.1 Croissance des moustiques

Les hypothèses nulles de cette étude se formulent comme suit :

- Il n'y a pas d'effet de la densité ou de la température ou de leur interaction sur le temps de développement moyen d'*Ae. triseriatus*.
- Il n'y a pas d'effet de la densité ou de la température ou de leur interaction sur le temps de développement relatif à chaque stade larvaire d'*Ae. triseriatus*.
- Il n'y a pas d'effet de la densité ou de la température ou de leur interaction sur la mortalité d'*Ae. triseriatus*.
- Il n'y a pas d'effet de la densité ou de la température ou du sexe ou de leur interaction sur le poids moyen des adultes d'*Ae. triseriatus*.
- Il n'y a pas d'effet de la densité ou de la température ou de leur interaction sur le sexe-ratio d'*Ae. triseriatus*.

1.7.2 Les bioessais avec *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*

L'hypothèse se pose comme suit :

- L'effet de l'insecticide *B.t.i.* est le même sur les larves d'*Aedes triseriatus* peu importe la densité larvaire, la température et la quantité de nourriture.

MATÉRIEL ET MÉTHODE

2.1 Protocole d'éclosion

Le protocole d'éclosion suivant a été retenu à la fois pour la section « Croissance » et pour la section « *B.t.i.* ». Les œufs provenaient de l'élevage d'*Ae. triseriatus* appartenant au Laboratoire départemental de Recherche sur les Arthropodes Hématophages de l'Université du Québec à Trois-Rivières (Fig. 4).

Pour déclencher l'éclosion des larves de moustiques, on déposait les œufs dans un Pétri de verre contenant de l'eau déchlorée en lui ajoutant de la levure à pain (Fleischmann®) afin de créer une baisse subite d'oxygène dans le milieu. Les jeunes larves écloses étaient ensuite comptées à l'aide d'une pipette Pasteur et déposées dans les pots à spécimens.

Les larves ont été nourries de poudre de foie de bœuf desséchée (Swiss®). On devait peser 60 g de poudre de foie que l'on mélangeait à 1 L d'eau déchlorée. De ce mélange, on en a pipeté un volume déterminé pour que chaque larve ait accès à une quantité définie de nourriture aux trois jours. Les volumes ajoutés changeaient selon les densités larvaires dans la partie avec le *B.t.i.* et ont été répartis suivant le protocole exposé au tableau I.

2.2 Croissance des moustiques

2.2.1 Le montage

Trois densités larvaires ont été utilisées lors de cette expérience, soit 100, 200 et 400 larves par litre (lar./l) d'eau déchlorée. L'eau potable utilisée provenait du réseau d'aqueduc de la ville de Trois-Rivières. Elle était laissée dans un récipient pendant 48 heures afin de permettre au chlore de s'en échapper.

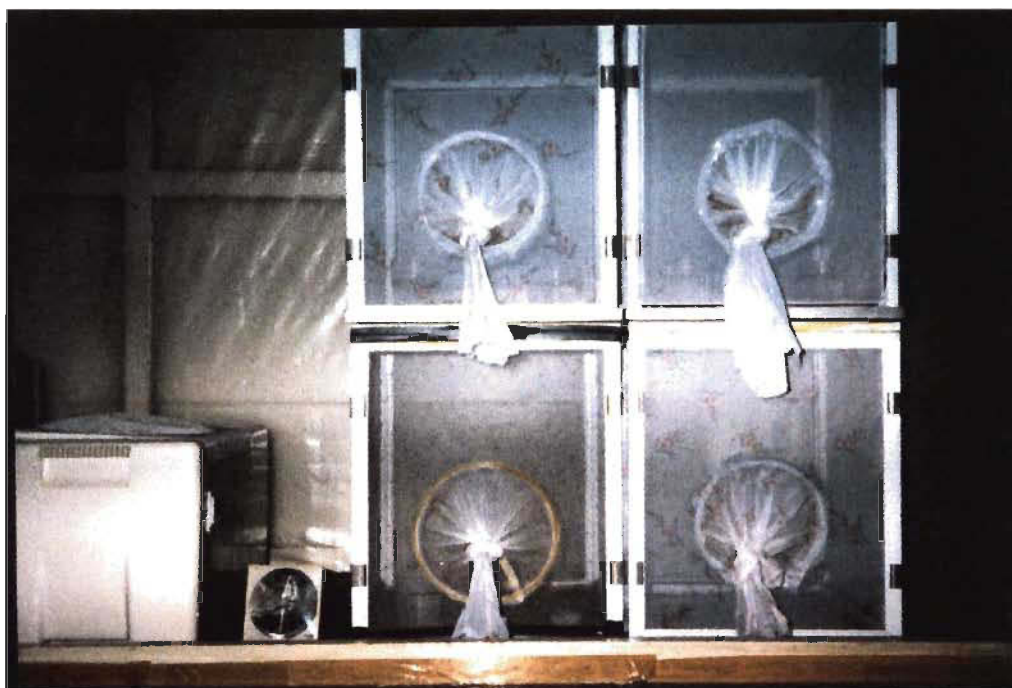


Figure 4. Cages d'élevage des moustiques de l'espèce *Aedes triseriatus*.

Image provenant de la collection du Laboratoire de Recherche sur les Arthropodes Hématophages de l'Université du Québec à Trois-Rivières.

Chacune des densités était testée à trois températures différentes, soit 18, 23 et 28°C. Le design expérimental comportait neuf combinaisons (3 niveaux de densités X 3 niveaux de températures) et chaque combinaison était répliquée quatre fois.

Les récipients utilisés pour l'expérience étaient des pots en plastique gradués jusqu'à 120 ml. Chaque pot était rempli avec 100 ml d'eau déchlorée et selon la densité larvaire, on ajoutait à chacun de ces pots, 10, 20 ou 40 larves, rejoignant ainsi des densités de 100, 200 ou 400 lar./l. Les pots étaient déposés dans les chambres environnementales (CONVIRON®) maintenues aux trois températures sélectionnées. Les moustiques ont été exposés à une photopériode de 16:8 (L:O). Nous avons utilisé cette photopériode pour recréer des conditions rencontrées en nature sous notre latitude.

À chaque jour, à 10:00 a.m., l'extraction et le décompte des exuvies et des larves mortes étaient effectués jusqu'à ce qu'aucune larve ne subsiste dans les pots. Lorsque le nombre d'exuvies et de larves mortes comptées correspondait au nombre total de larves dans chaque pot, cela indiquait que le passage d'un stade larvaire au suivant était complété.

Par exemple, dans un pot contenant 10 larves, lorsque le compte de 10 exuvies était atteint, cela signifiait que les individus avaient atteint le stade larvaire suivant. Au stade de nymphe, des couvercles protecteurs étaient installés sur chacun des pots pour éviter que les moustiques adultes ne s'échappent.

Au cours des observations quotidiennes, lorsqu'un moustique adulte apparaissait, il était immédiatement anesthésié avec une ouate imbibée d'éther éthylique. Le moustique était ensuite déposé sur un papier absorbant pour une durée de cinq minutes. On procédait au sexage; les mâles possèdent des antennes très poilues et les femelles, des antennes peu poilues ce qui peut être observé à l'œil nu. Finalement, on pesait les moustiques sur une balance analytique précise aux cent millièmes de gramme (Mettler AE 240®).

2.2.2 Justification du choix des densités et des températures

La densité de 100 lar./l a été retenue pour simuler des conditions de faible densité de population. Une densité de 200 lar./l a été observée dans des pneus abandonnés (Maire *et al.*, 1992). La densité de 400 lar./l avoisine celle de la capacité limite du milieu (Edgerly et Livdahl, 1992; Belzile 1991). Ces densités ont été choisies pour représenter le plus possible des conditions naturelles ainsi que des conditions pouvant induire un stress.

La valeur de 18°C s'insère dans les températures moyennes déjà enregistrées par Belzile (1991). Celle de 23°C permet de recréer des conditions rencontrées dans les dendrothelmes et les vieux pneus alors que celle de 28°C sert à vérifier l'effet du développement des différentes densités à une température très élevée. Dans un protocole différent, une équipe l'a d'ailleurs expérimenté sur *Ae. triseriatus* à $27 \pm 1^\circ\text{C}$, condition de température élevée parfois rencontrée en nature (Wraight *et al.*, 1987).

2.2.3 Protocole alimentaire

Les quantités de nourriture ont été fixées pour les trois densités selon le protocole de Munstermann et Wasmuth (1985) adapté par Belzile (1991). Chaque larve recevait une quantité de 0.02 ml de nourriture à chaque trois jours. Grimstad et Haramis (1984) et Rueda et collaborateurs (1990) ont également servi que de la poudre de foie séchée aux larves de moustiques pour leur croissance.

2.3 Bioessais avec *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*

2.3.1 Le montage

Les néonates (Fig. 5) ont été déposées dans des récipients de plastique rectangulaires (Tupperware®) selon trois densités soit 150, 450 et 900 lar./l d'eau déchlorée. Les larves ont vécu les effets de la densité, de la température et de la limitation de nourriture dans ces bacs.



Figure 5. Larves d'*Aedes triseriatus*.

Image de la collection du Laboratoire de Recherche sur les Arthropodes Hématophages de l'Université du Québec à Trois-Rivières.

Une eau maintenue à la température des élevages respectifs était disponible afin d'ajuster le niveau d'eau des bacs pour compenser l'évaporation. Un sous-échantillonnage de 30 larves par bioessai a été réalisé dans le but de déterminer, à l'aide d'un binoculaire, l'atteinte du troisième stade de leur développement permettant ainsi le début des bioessais. Une larve qui a atteint ce stade compte deux plaques sclérotisées qui supportent les soies de chaque côté du métathorax tandis qu'une larve de deuxième stade ne compte qu'une seule sclérotinisation (Savignac et Maire, 1981).

Vorgetts *et al.* (1988) ont constaté que la réponse aux bioessais était fonction de la quantité de toxines auxquelles sont exposées les larves, indépendamment du volume d'eau utilisé. De plus, lorsque des densités larvaires différentes étaient employées lors des bioessais avec le *B.t.i.*, les concentrations létales variaient très faiblement. C'est pour cette raison qu'une densité unique de larves, soit 25 larves pour chacun des pots à spécimens, a été utilisée lors de nos bioessais avec le *B.t.i.*.

Les valeurs de 23°C et de 28°C ont été choisies comme températures expérimentales pour tenter d'équivaloir à des conditions rencontrées en nature. Des pré-tests ont été effectués pour chacune des densités larvaires d'élevage, à raison de trois concentrations différentes de Teknar HP-D® (formulation liquide de *B.t.i.*), afin d'établir l'échelle de toxicité de la solution sur les larves. Cette échelle correspond aux concentrations auxquelles les larves sont susceptibles d'être mortellement atteintes. Une fois connue, l'échelle de toxicité était divisée à raison de cinq concentrations de *B.t.i.* par bioessai.

Comme certains bioessais nous procuraient des pourcentages de mortalités près de 100%, nous réajustons les cinq concentrations du bioessai suivant afin d'obtenir le plus possible entre 20% et 80% de mortalité. C'est pour cette raison que sur les figures 18 à 22 qu'on y observera entre 5 et 10 concentrations différentes. Finalement, chaque concentration a été effectuée en triplicata lors d'un bioessai.

Cent ml d'eau déchlorée sont ajoutés dans chacun des pots. À noter que la quantité de *B.t.i.* à ajouter doit être notée pour que préalablement une même quantité d'eau soit enlevée afin de permettre un total précis de 100 ml (eau + *B.t.i.*). Une fois les bioessais préparés, les pots sont disposés dans les chambres environnementales (CONVIRON®). Le décompte des mortalités a été fait après 24 heures d'exposition comme plusieurs auteurs suggèrent de le faire (Florida Coordinating Council on Mosquito Control, 1998; Vorgetts, 1988; Ignoffo *et al.*, 1983; Zaritsky et Khawaled, 1986). Il faut s'assurer de compter seulement les larves vivantes à cause de la prédation possible. Les larves sont considérées mortes lorsqu'elles demeurent immobiles après les avoir touchées avec une tige de verre.

2.3.2 Justification du choix des densités et des températures

Nous avons adopté, dans cette deuxième partie, de nouvelles densités larvaires afin de créer un plus grand écart entre les densités. En effet, les larves sont retirées des bacs d'élevage au troisième stade afin d'effectuer les bioessais, leur soustrayant ainsi deux stades de cohabitation. Ces grands écarts devraient nous permettre d'obtenir des différences plus marquées sur le développement des larves de moustiques dans les bacs d'élevage. Les densités de 150 et 450 lar./l représentent respectivement les densités présentes dans les pneus abandonnés et dans les creux d'arbres selon l'étude de Belzile (1991). La densité de 900 lar./l a été retenue afin de créer un stress important sur le développement des larves. Nous voulions pousser le stress au-delà de ce qui est recensé dans la littérature pour *Ae. triseriatus*. Chez *Ae. atropalpus* la densité de 900 lar./l est considérée très élevée, affecte l'oviposition et repousse les femelles de cette espèce (Bentley et Day, 1989). Finalement, la surpopulation chez les moustiques crée une compétition pour l'espace, la nourriture et l'air (Ikeshoji et Mulla, 1970b).

2.3.3 Protocole alimentaire

Trois conditions alimentaires dans le milieu sont associées à chacune des densités. Ainsi, pour la densité de 150 lar./l, la portion normale de 0.02 ml de la solution (60 g de poudre dans 1 litre d'eau) a été administrée (Munstermann et Wasmuth, 1985), ce qui a permis d'obtenir des larves élevées dans des conditions nutritionnelles non limitatives. Les quantités de nourriture servies à 150 lar./l ont été servies à 450 et 900 lar./l créant des conditions limitative (450 lar./l) et très limitative (900 lar./l) à l'accessibilité à la nourriture. Chaque larve a donc reçu une quantité différente selon la densité d'élevage (Tableau I).

Tableau I

Quantité de nourriture administrée par larve lors de l'élevage en bacs

Jour	Densité (lar./l)	Température (°C)	Quantité (ml de suspension de foie)
1, 4, 7, 10	150	23 et 28	0.02
1, 4, 7, 10	450	23 et 28	0.0066
1, 4, 7, 10	900	23 et 28	0.0033

2.4 Statistiques

Pour la section « Croissance », des analyses de variance (ANOVA) à deux critères de classification, des régressions linéaires ainsi que des tests du chi-carré ont été utilisés. La température et la densité constituent les deux critères de classification. Ces tests devaient répondre aux conditions de normalité et d'homoscédasticité, ce qui a été également testé. Une analyse qualitative, à l'aide de graphiques, a servi à illustrer la succession des différents stades larvaires aux différentes densités et températures.

Pour la section « *B.t.i.* », afin d'étudier la toxicité de cet insecticide, des courbes de mortalité ont été tracées sur papier PROBIT, lequel permet d'obtenir une relation linéaire entre la mortalité (probit) en ordonnée et la concentration (log) en abscisse (Finney, 1971).

Pour obtenir les concentrations létales à 50% (CL₅₀) ainsi que les pentes et les intervalles de confiance, le logiciel de statistique « SPSS version 7.5.3 pour Windows 95 » a été utilisé. Finalement, la formule d'Abbott a été utile pour corriger les résultats des pourcentages de mortalité par rapport à celle des témoins (Abbott, 1925)

$$\text{Formule d'Abbott : } \frac{X - Y}{X} * 100\% = \% \text{ de mortalité corrigé}$$

Où X: % de larves vivantes dans les témoins

Y: % de larves vivantes dans le traitement

RÉSULTATS

Les expériences menées en chambres environnementales sous différentes combinaisons de densités et de températures ont permis de récolter une multitude de données pouvant élargir les connaissances sur les réactions d'*Ae. triseriatus* exposé ou non à l'insecticide biologique.

3.1 Temps moyen de développement

3.1.1 Analyses statistiques

Pour la durée de développement, une Anova simple (Simple Factorial Anova) a été pratiquée pour déterminer l'effet de la densité et de la température ou de leur interaction sur le temps de développement larvaire jusqu'au stade nymphal.

Les facteurs « température » ($F=48.99$) et « densité » ($F=28.04$) pris individuellement montrent des valeurs significatives. Ces résultats nous renseignent que la température et la densité influencent le temps moyen de développement des larves. La température a un effet presque deux fois plus élevé que la densité sur le temps moyen de développement. L'interaction « température * densité » était non significative ($F=0.78$), cela signifie que peu importe la température de l'eau d'élevage et peu importe la densité larvaire, aucun de ces deux facteurs n'a d'influence un sur l'autre sur le temps moyen de développement des larves (Tableau II).

Tableau II

Résultats de l'analyse de variance sur le temps moyen de développement

			Somme des carrés	F	Sig.
Jours moyens	Effets principaux	(Combinés)	1362.34	39.04	.000
		Température	854.69	48.99	.000
		Densité	489.25	28.04	.000
	Interactions à 2 critères	Température * Densité	27.33	.78	.547

Une droite de régression a permis de prédire le nombre de jours moyens que peuvent prendre des larves de moustiques d'*Ae. triseriatus* pour accomplir leur développement jusqu'au stade nymphal inclusivement. L'équation est la suivante :

Equation #1 :

$$\text{Jours} = 44.88 - (1.14 * \text{Température}) + (0.0298 * \text{Densité})$$

Où :

Jours : Nombre de jours de développement de l'éclosion au stade adulte

Température : Température (°C) à laquelle sont soumises les larves

Densité : Densité larvaire (lar./l)

Cette régression possède un R^2 de 0.758 (n=34, significatif à $p < 0.01$) ce qui signifie que 75.8% de la variation du nombre de jours est expliquée par ce modèle. Le facteur « température » a une pente négative de 1.14. Cette valeur signifie qu'une augmentation de 1°C provoque un abaissement de 1.14 jour sur le temps de développement total. Par exemple, entre 18 et 28°C, une différence oscillant autour de 11.40 jours sera observée en utilisant l'équation 1.

En ce qui a trait au coefficient « densité », on pourra observer une hausse de ~ 0.03 jour dans la durée de développement pour chaque larve dans un litre d'eau. Par exemple, entre 100 et 400 lar./l, une différence oscillant autour de 8.94 jours sera observée en utilisant l'équation 1.

3.1.2 Temps moyen de développement à 18, 23 et 28°C

Les résultats pour le temps moyen de développement ont été examinés à l'aide d'analyses de variance à un facteur ainsi qu'avec des tests HSD de Tukey comme il furent utilisés dans des conditions semblables par Rueda *et al.* (1990).

A 18°C aux trois densités larvaires (100, 200 et 400 lar./l), la durée moyenne de développement était respectivement de 27.75, 33.33 et 37.25 jours (Fig. 6A). On a décelé qu'une différence significative était présente entre les densités de 100 et 400 lar./l ($p=0.013$). A 23°C, la durée moyenne de développement était respectivement pour chacune des densités larvaires de 19.00, 22.25 et 28.33 jours (Fig. 6B). On a décelé qu'une différence significative était présente entre les densités de 100 et 400 lar./l ($p=0.001$) ainsi qu'entre 200 et 400 lar./l ($p=0.004$). A 28°C, la durée moyenne de développement pour chacune des densités était respectivement de 15.75, 23.25 et 24.50 jours (Fig. 6C). On a décelé qu'une différence significative était présente entre les densités de 100 et 200 lar./l ($p=0.024$) ainsi qu'entre 100 et 400 lar./l ($p=0.010$).

Pour une même température, plus la densité augmente, plus le nombre de jours requis pour le développement de la larve à l'adulte augmente. Toutefois, aucun patron constant ne se dégage sur les différences significatives.

3.1.3 Temps moyen de développement à 100, 200 et 400 larves par litre

A 100 lar./l aux trois températures d'élevage (18, 23 et 28°C), la durée moyenne de développement était respectivement de 27.75, 19.00 et 15.75 jours (Fig. 7A). On a décelé qu'une différence significative était présente entre 18 et 23°C ($p=0.007$) ainsi qu'entre 18 et 28°C ($p=0.001$). A 200 lar./l sous 18, 23 et 28°C, la durée moyenne de développement était respectivement de 33.33, 22.25 et 23.25 jours (Fig. 7B). Une différence significative était présente entre les températures de 18 et 23°C ($p=0.010$) ainsi qu'entre 18 et 28°C ($p=0.016$). A 400 lar./l sous 18, 23 et 28°C, la durée moyenne de développement était respectivement de 37.25, 28.33 et 24.50 jours (Fig. 7C). Une différence significative a été décelée entre 18 et 23°C ($p=0.001$) ainsi qu'entre 18 et 28°C ($p=0.001$).

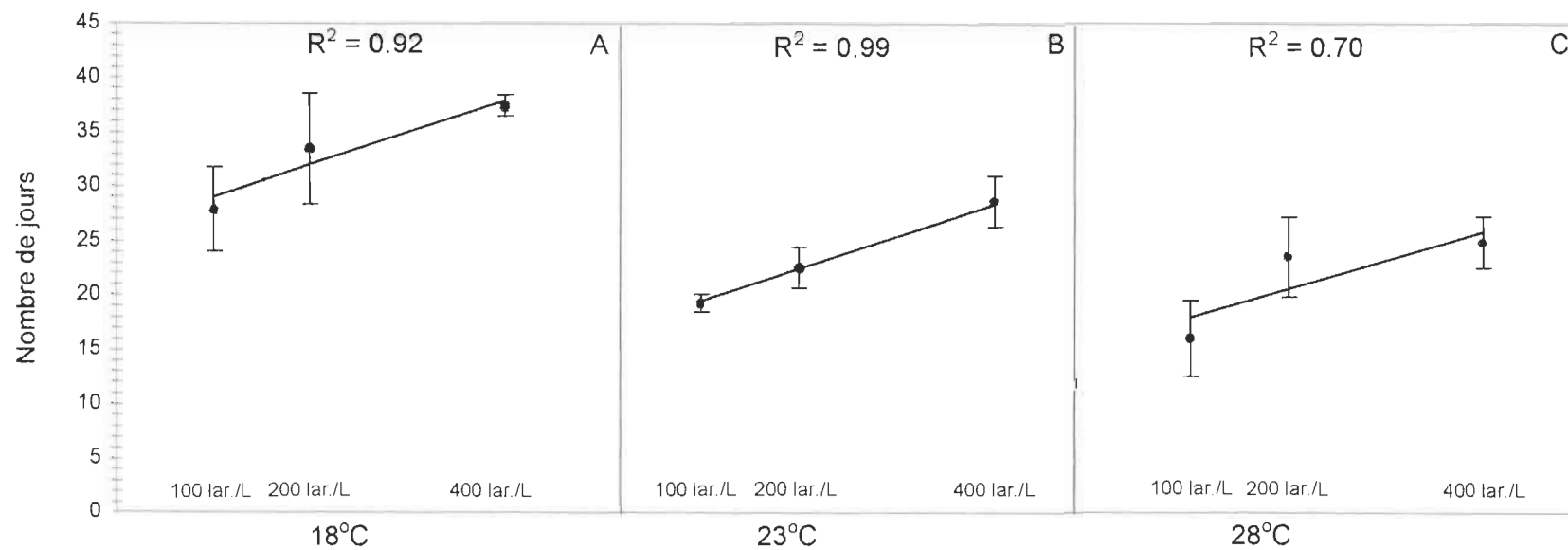


Figure 6. Valeurs observées du temps de développement moyen à 18 (fig. A), 23 (fig. B) et 28°C (fig. C) et leurs pentes de régression chez *Aedes triseriatus*.

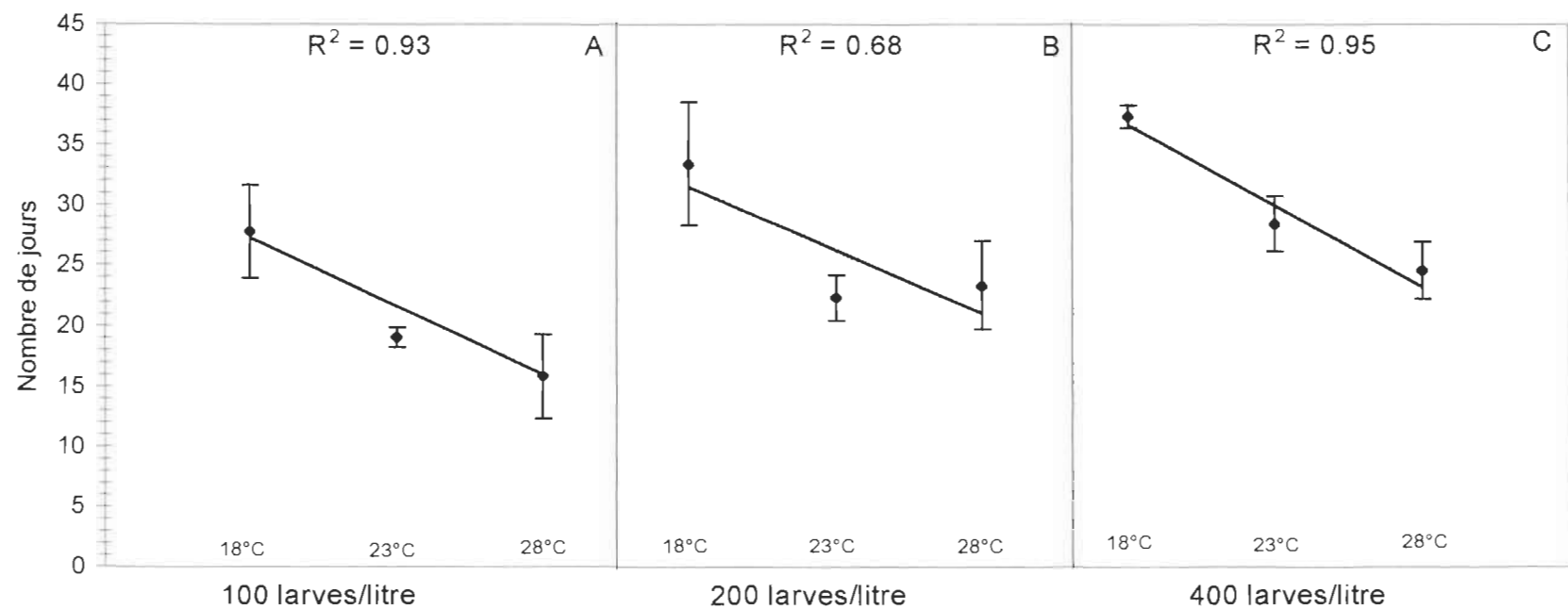


Figure 7. Valeurs observées du temps de développement moyen à 100 (fig. A), 200 (fig. B) et 400 lar./l (fig. C) et leur pentes de régression chez *Aedes triseriatus*.

Pour une même densité, plus la température augmente, plus le nombre de jours requis pour le développement de la larve jusqu'à l'adulte diminue. Toutes les comparaisons entre 18 et 23°C et entre 18 et 28°C se sont avérées significatives et toutes les comparaisons entre les températures de 23°C et 28°C se sont avérées non significatives.

Les tableaux III et IV regroupent les résultats sur les temps moyens de développement ainsi que leurs écarts types classés par densités ou températures semblables.

Tableau III

Temps moyens de développement comparés par température identique

Température (°C)	Densité (larves par litre)	Durée totale (jours)*	Ecart-type
18	100	27.75 ^a	3.86
18	200	33.33 ^{ab}	5.13
18	400	37.25 ^b	0.96
23	100	19.00 ^a	0.82
23	200	22.25 ^a	1.89
23	400	28.33 ^b	2.31
28	100	15.75 ^a	3.50
28	200	23.25 ^b	3.69
28	400	24.50 ^b	2.38

*Les lettres a, b et c en exposant désignent la présence ou non de différences significatives. Des lettres semblables signifient qu'aucune différence significative n'existe alors que des lettres différentes impliquent la présence d'une différence significative ($p < 0.05$).

Tableau IV

Temps moyens de développement comparés par densité identique

Densité (larves par litre)	Température (°C)	Durée totale (jours)*	Ecart-type
100	18	27.75 ^a	3.86
100	23	19.00 ^b	0.82
100	28	15.75 ^b	3.50
200	18	33.33 ^a	5.13
200	23	22.25 ^b	1.89
200	28	23.25 ^b	3.69
400	18	37.25 ^a	0.96
400	23	28.33 ^b	2.31
400	28	24.50 ^b	2.38

*Les lettres a, b et c en exposant désignent la présence ou non de différences significatives. Des lettres semblables signifient qu'aucune différence significative n'existe alors que des lettres différentes impliquent la présence d'une différence significative ($p < 0.05$).

3.2 Temps de développement de chaque stade larvaire3.2.1 Analyses statistiques

Une analyse de régression linéaire a été utilisée pour prédire le nombre de jours moyens de chacun des stades larvaires d'*Ae. triseriatus* sous nos conditions expérimentales.

L'équation est la suivante :

Equation #2

$$JS_x = 6.58 - (0.23 * Temp) + (0.006 * Dens) + (0.8 * Stade_x)$$

Où

JS_x : Nombre total de jours pour le développement d'un stade spécifique

Stade_x : Numéro du stade de développement (1, 2, 3, 4 et 5 ou nymphe)

Temp : Température (°C) à laquelle sont soumises les larves

Dens : Densité (lar./l) d'élevage

Cette régression possède un R^2 de 0.438 ($n=170$, significatif à $p<0.01$) ce qui signifie que 43.8% de la variation du nombre de jours est expliquée par le modèle de régression. L'autre partie du pourcentage de la variation peut être attribuée à l'erreur expérimentale ou à des facteurs non pris en compte. Le facteur température a une pente de valeur négative de 0.23. Cette valeur signifie que lors d'une augmentation de 1°C , le temps de développement s'abaisse de 0.23 jour. Ainsi, en utilisant l'équation 2, entre 18 et 28°C , une différence oscillant autour de 2.30 jours est à observer peu importe la densité ou le stade de développement larvaire.

En ce qui a trait au coefficient de densité, on observera une faible hausse de 0.006 jour dans la durée de développement larvaire pour chaque larve supplémentaire dans un litre d'eau. Ainsi, en utilisant l'équation 2, entre 100 et 400 lar./l, une différence de 1.8 jours peu importe la température ou le stade sera notée.

Pour le paramètre Stade_x (stade de développement), il a une valeur de 0.8 signifiant que le passage d'un nouveau stade au suivant fait augmenter le nombre de jours de 0.8. Ainsi, la différence du nombre de jours entre le stade 1 et nymphal s'établit à 3.2 jours peu importe la température ou la densité.

Des régressions linéaires ont été effectuées pour obtenir des formules prédictives pour chacun des stades :

$$\text{JS}_1 = 9.84 - (0.23 \times \text{Temp}) \quad R^2 = 0.582$$

$$\text{JS}_2 = 7.32 - (0.20 \times \text{Temp}) \quad R^2 = 0.583$$

$$\text{JS}_3 = 11.31 - (0.36 \times \text{Temp}) + (0.009 \times \text{Dens}) \quad R^2 = 0.532$$

$$\text{JS}_4 = 11.50 - (0.22 \times \text{Temp}) \quad R^2 = 0.305$$

$$\text{JS}_5 = 2.52 + (0.02 \times \text{Dens}) \quad R^2 = 0.560$$

On peut déduire que la température affecte de façon similaire les stades 1, 2 et 4 avec des pentes variant de -0.20 à -0.23 . Le troisième stade semble un peu plus influencé par la

température que les autres avec une valeur de pente de -0.36 . Au stade nymphal (stade 5), le paramètre de la température n'entre pas dans la formule de régression signifiant ainsi qu'elle n'a joué aucun effet sur le temps de développement à ce stade. La densité apparaît dans les formules prédictives des stades 3 et 5 avec des pentes de valeurs inférieures à 0.02 .

En incluant des valeurs fixes de température et de densité, on peut classer par ordre croissant, le nombre de jours que requière chacun des stades. En premier lieu vient le stade nymphal et par la suite le second stade. Le premier ainsi que le troisième stade se suivent de près. Finalement, le quatrième stade se retrouve dernier avec le nombre de jours de développement le plus élevé.

3.2.2 Temps moyen de développement à 18, 23 et 28°C pour chaque stade larvaire

À 18°C, c'est sous la densité de 400 lar./l au stade 1, 3 et au stade nymphal que le temps de passage a été le plus long et c'est à 200 lar./l que les stades 2 et 4 ont pris le plus de temps à se compléter (Fig. 8A). A 100 lar./l, tous les stades larvaires ont été les plus courts. Des tests de Tukey ont ensuite été appliqués afin de vérifier si des différences significatives existaient pour un même stade, aux densités larvaires différentes (exemple : stade 1 à 100 lar./l vs stade 1 à 200 lar./l et vs stade 1 à 400 lar./l.). Ces tests post-hoc ont permis de déceler une telle différence uniquement pour le stade nymphal à 18°C. Elle concerne la comparaison entre 100 et 200 lar./l et entre 100 et 400 lar./l.

À 23°C, c'est sous la densité de 400 lar./l au stade 1 (à égalité avec 100 lar./l), 2, 3 et au stade nymphal que le temps de passage a demandé le plus de temps et c'est à 200 lar./l que le stade 4 a été le plus long (Fig. 8B). Les tests de Tukey nous ont permis de déceler une différence seulement pour le stade 3 et le stade nymphal à 23°C. Au stade 3, cette différence significative se situe dans la comparaison des densités de 100 vs 400 lar./l. Au stade de

nymphes, les comparaisons entre 100 et 400 lar./l et entre 200 et 400 lar./l ont révélé des résultats significatifs.

À 28°C, c'est sous la densité de 400 lar./l au stade 1, 3 et au stade nymphal que le temps de passage a pris le plus de temps à se compléter et c'est à 200 lar./l que les stades 2 et 4 ont duré le plus longtemps (Fig. 8C). La densité de 100 lar./l a vu tous ses stades larvaires être les plus courts. Les tests de Tukey ont permis de déceler une différence seulement au stade 3 à 28°C et elle se situe dans la comparaison entre 100 et 400 lar./l.

3.2.3 Temps moyen de développement à 100, 200 et 400 larves par litre pour chaque stade larvaire

À 100 lar./l, c'est à 18°C que le temps de passage a été le plus long du premier au quatrième stade et c'est à 28°C que le stade nymphal prend le plus de temps à se compléter (Fig. 9A). Des tests de Tukey ont été appliqués afin de vérifier si des différences significatives existaient pour un même stade, aux températures différentes (exemple : stade 1 à 18°C vs stade 1 à 23°C vs stade 1 à 28°C). Une différence significative a été décelée pour le troisième stade seulement à 100 lar./l entre les températures de 18 et 23°C ainsi qu'entre 18 et 28°C.

À 200 lar./l, le temps de passage a été le plus long, et ce pour tous les stades à 18°C (Fig. 9B). Le test de Tukey n'a permis de trouver de différences significatives.

À 400 lar./l, le temps de passage a été le plus long, et ce pour tous les stades à 18°C (Fig. 9C). Le test de Tukey a décelé une différence significative au stade nymphal à 400 lar./l pour la comparaison entre 18°C et 28°C.

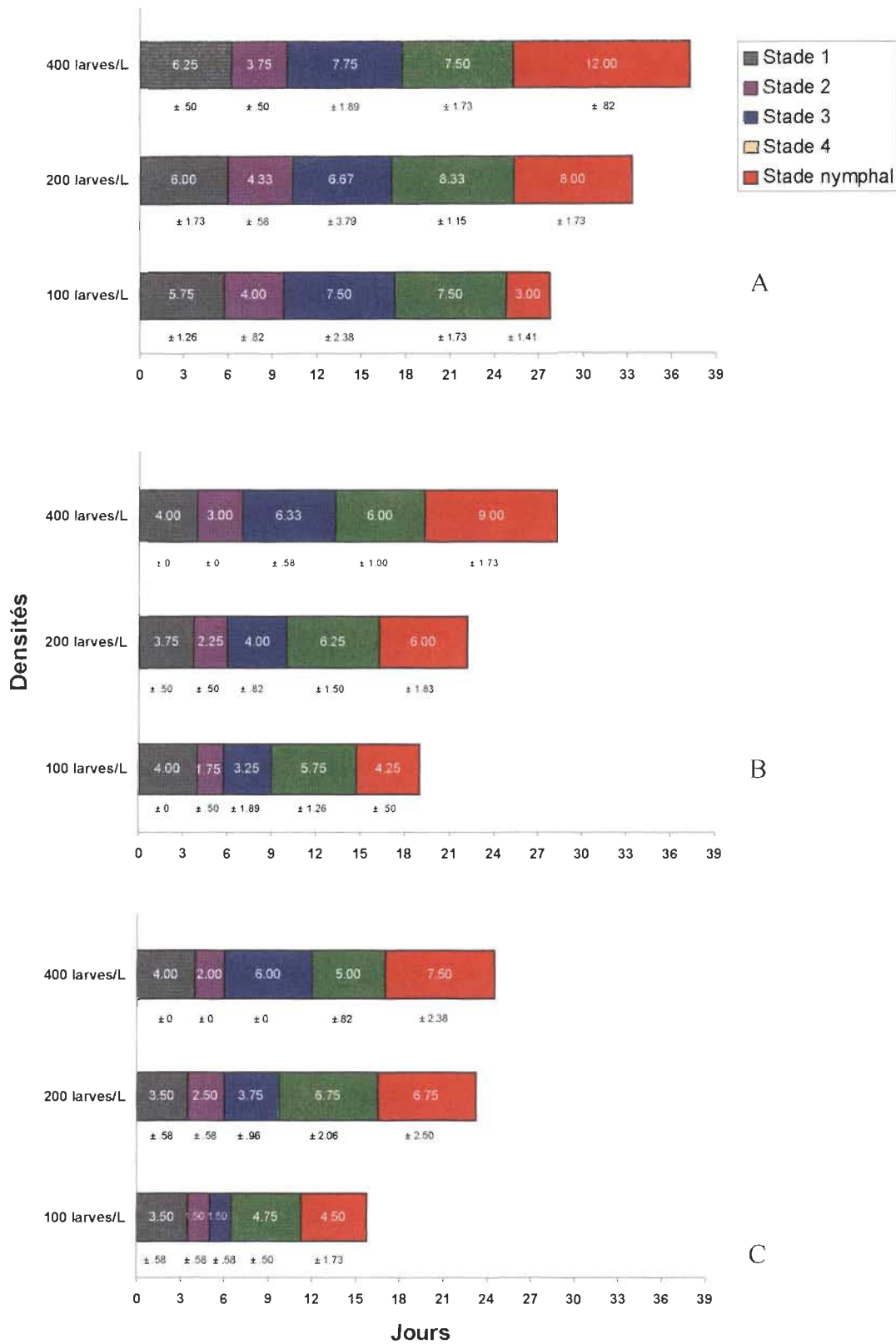


Figure 8. Temps de développement pour chacun des stades d'*Aedes triseriatus* à 18 (fig. A), 23 (fig. B) et 28°C (fig. C).

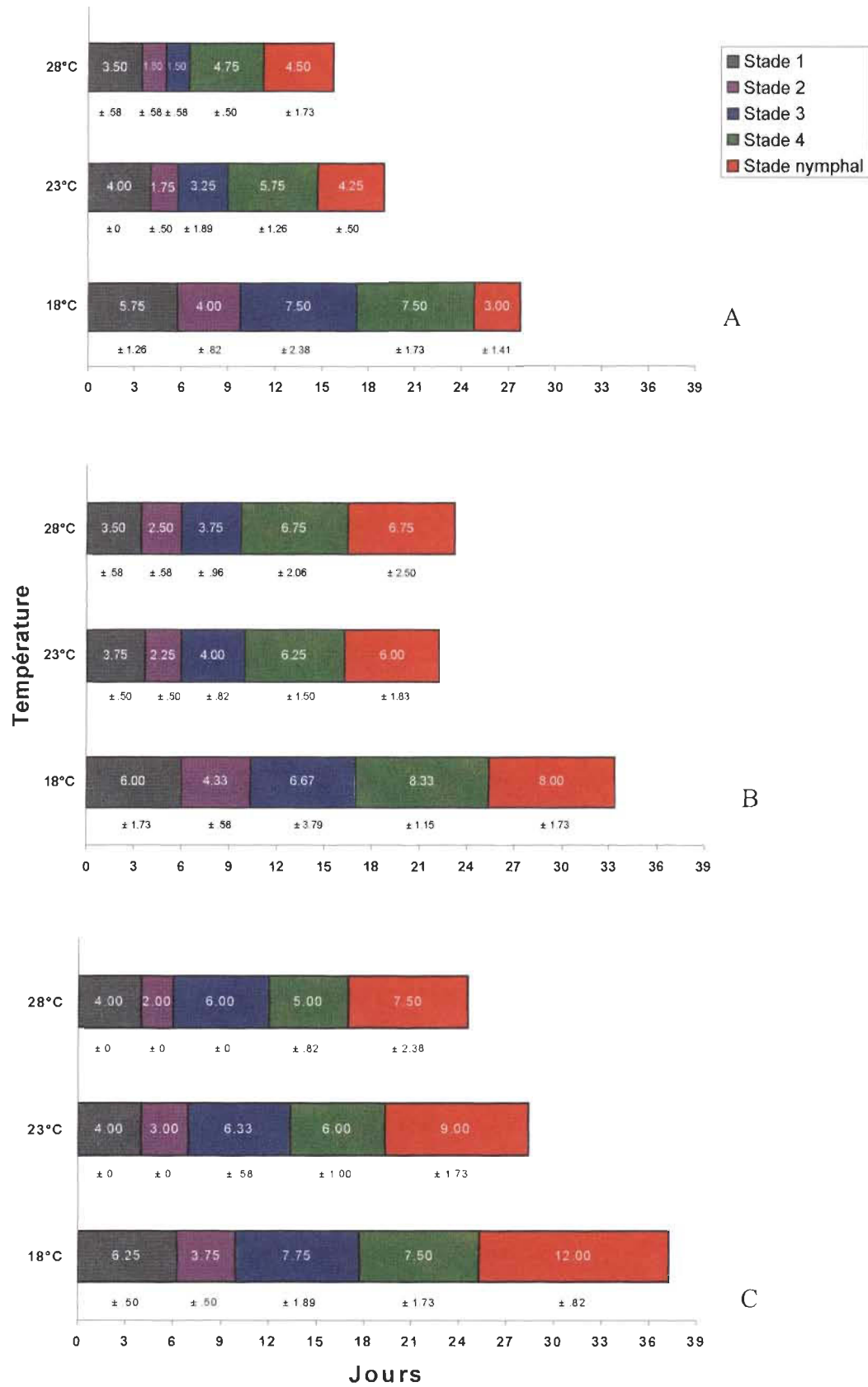


Figure 9. Temps de développement pour chacun des stades d'*Aedes triseriatus* à 100 (fig. A), 200 (fig. B) et 400 larves par litre (fig. C).

3.3 Mortalité et analyses statistiques

Lors des tests en chambres expérimentales, des mortalités étaient observées et leur décompte effectué. Ces données recueillies ont permis de vérifier si la température, la densité ou l'interaction de ces facteurs était responsable des mortalités enregistrées (Fig. 10). On a pu également remarquer les différentes mortalités et écarts types obtenus dans les combinaisons expérimentales (Tableau V et VI).

L'Anova simple a été utilisée pour vérifier l'influence de la température sur les mortalités; elle n'a pu révéler de différence significative ($F=1.64$) et par le fait même la température n'influence pas la mortalité. L'analyse de variance n'a pu également révéler de différence significative ($F=0.56$) du facteur de la densité sur la mortalité.

Finalement, l'Anova a tenu compte à la fois du facteur de la densité et de la température. Aucune interaction n'a été décelée entre les deux facteurs versus la mortalité des moustiques ($F=0.14$) (Tableau VII). L'effet de la température sur la mortalité est alors le même peu importe la densité larvaire.

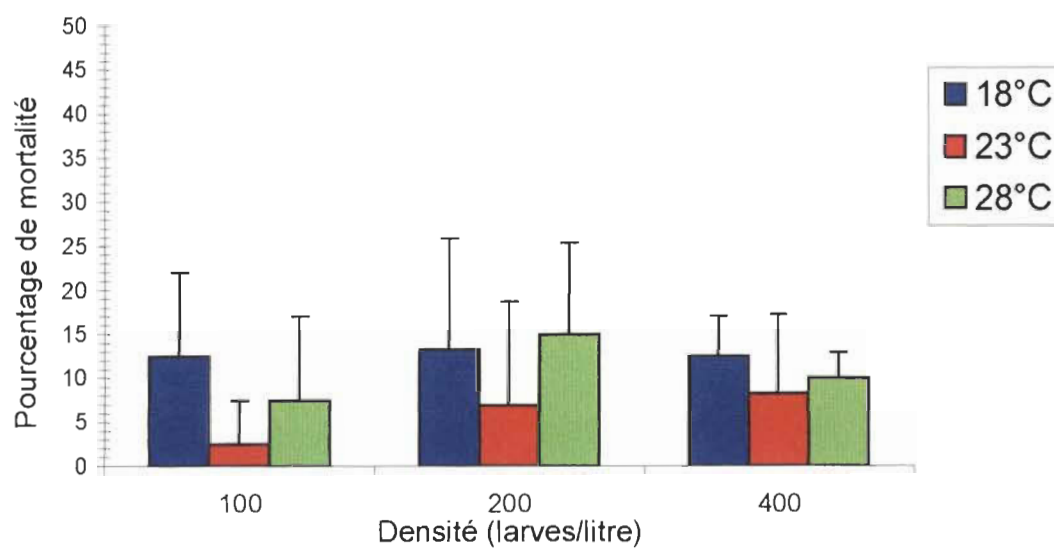


Figure 10. Répartition du pourcentage de mortalité en fonction des traitements expérimentaux.

Tableau V

Pourcentages de mortalités exprimés à température fixe sous 100, 200 et 400 lar./l

Température (°C)	Densité (larves par litre)	Mortalité (%)*	Ecart-type
18	100	12.50 ^a	9.57
18	200	13.33 ^a	12.58
18	400	12.50 ^a	4.56
23	100	2.50 ^a	5.00
23	200	7.50 ^a	11.90
23	400	8.33 ^a	5.77
28	100	7.50 ^a	8.66
28	200	12.50 ^a	10.41
28	400	10.00 ^a	2.89

*Les lettres a, b et c en exposant désignent la présence ou non de différences significatives. Des lettres semblables signifient qu'aucune différence significative n'existe alors que des lettres différentes impliquent la présence d'une différence significative ($p < 0.05$).

Tableau VI

Pourcentages de mortalités exprimés à une densité fixe sous 18, 23 et 28°C

Densité (larves par litre)	Température (°C)	Mortalité (%)*	Ecart-type
100	18	12.50 ^a	9.57
100	23	2.50 ^a	5.00
100	28	7.50 ^a	8.66
200	18	13.33 ^a	12.58
200	23	7.50 ^a	11.90
200	28	12.50 ^a	10.41
400	18	12.50 ^a	4.56
400	23	8.33 ^a	5.77
400	28	10.00 ^a	2.89

*Les lettres a, b et c en exposant désignent la présence ou non de différences significatives. Des lettres semblables signifient qu'aucune différence significative n'existe alors que des lettres différentes impliquent la présence d'une différence significative ($p < 0.05$).

Tableau VII

Résultats de l'analyse de variance sur le pourcentage de mortalité

			Somme des carrés	F	Sig.
Mortalité	Effets principaux	(Combinés)	322.33	1.09	.382
		Température	242.38	1.64	.214
		Densité	82.47	.56	.579
	Interaction à 2 critères	Température	41.69	.14	.965
		* Densité			

3.4 Poids des moustiques adultes3.4.1 Analyses statistiques

Pour vérifier l'effet des différents facteurs (densité, température et sexe) sur le poids des moustiques, une analyse de variance à trois critères de classification a été effectuée (Tableau VIII). Toutes les variables de l'expérience se sont révélées significatives. La variable « sexe » ($F=1041.51$) a la valeur de F la plus élevée, suit la variable « température » ($F=72.35$) et en dernier lieu la variable « densité » ($F=12.27$). Une différence normale et majeure entre le poids des mâles et des femelles fait en sorte que le facteur « sexe » a la somme des carrés la plus élevée. La température, quant à elle, joue un rôle beaucoup plus important que la densité qui a peu d'effet sur le poids des moustiques mâles et femelles.

Tableau VIII

Résultats de l'analyse de variance sur le poids des moustiques

			Somme des carrés	F	Sig.
Poids	Effets principaux	(Combinés)	364.80	235.99	.000
		Température	44.73	72.35	.000
		Sexe	322.00	1041.51	.000
		Densité	7.58	12.27	.000
	Interaction à 2 critères	(Combinés)	18.37	7.43	.000
		Température *	13.66	22.10	.000
		Sexe	2.72	2.20	.068
		Densité	1.01	1.63	.197
	Interaction à 3 critères	Sexe *	9.08	7.34	.000
		Température * Sexe * Densité			

Une interaction entre la « température » et le « sexe » s'est révélée significative ($F=22.10$). Cela signifie que la température n'agit pas de la même façon sur les individus des deux sexes. C'est à 18°C que les poids sont les plus élevés chez les mâles et chez les femelles. A 23°C, le poids des mâles (0.63 mg) est presque deux fois plus petit qu'à 18°C (1.27 mg). A 28°C, le poids des mâles (1.14 mg) est presque doublement plus élevé qu'à 23°C. Les poids aux trois densités expérimentales chez les mâles sont significativement différents entre eux à 28°C. Chez les femelles, les poids sont inversement proportionnels à la température. Les poids des femelles sont respectivement de 3.12 mg à 18°C, de 2.35 mg à 23°C et de 2.25 mg à 28°C. Les deux dernières valeurs forment un groupe homogène significativement différent du poids à 18°C.

Une interaction entre les trois facteurs étudiés s'est avérée significative ($F=7.34$) impliquant que la température et la densité réduisent ou augmentent le poids des adultes à la fois chez les mâles et chez les femelles.

Dans cette analyse de régression, les moyennes des poids ont été utilisées. L'équation est la suivante:

Equation #3

$$P = 4.610 - (3.278 * \text{Sexe}) - (0.09165 * \text{Temp}) + (0.07616 * \text{Sexe} * \text{Temp})$$

Où

P: Poids du moustique (mg)

Temp: Température à laquelle sont soumises les larves (°C)

Sexe: Sexe du moustique (0 = femelle, 1 = mâle)

Cette régression possède un R^2 de 0.628 (n=708, significatif à $p < 0.01$) ce qui signifie que 62.8% de la variation du poids est expliquée par ce modèle.

Les femelles se répartissent d'un côté de la distribution des poids et les mâles de l'autre. Les femelles (n=351) ont un poids plus grand ou égal à 1.75 mg et les mâles (n=357) un poids plus petit ou égal à 1.75 mg. La moyenne des poids pour les femelles se situe à 2.48 mg avec un écart type de 0.84 et pour les mâles à 0.97 milligrammes avec un écart type de 0.46.

3.4.2 Moyennes des poids des mâles et des femelles à 18, 23 et 28°C

À 18°C, que ce soit à 100, 200 ou 400 lar./l, les poids moyens forment un groupe homogène ne permettant pas d'observer de différences significatives tant chez les mâles que chez les femelles (Fig. 11A).

À 23°C, seules les femelles issues d'une densité larvaire de 100 lar./l sont significativement différentes de 200 et 400 lar./l (Fig. 11B).

À 28°C, chez les femelles, les poids aux trois densités étudiées étaient trop proches pour y retrouver des différences significatives. Cependant, chez les mâles, les poids moyens aux trois densités sont tous significativement différents entre eux (Fig. 11C).

Le tableau IX résume les valeurs moyennes des poids, les écarts types ainsi que les différences significatives enregistrées dans les combinaisons expérimentales chez les mâles et les femelles. En résumé, chez les mâles et les femelles, peu importe la température à une densité constante, les poids moyens montrent tous au moins une différence significative entre eux.

3.4.3 Moyennes des poids des mâles et des femelles à 100, 200 et 400 larves par litre

À 100 lar./l chez les femelles, une différence significative a été détectée pour les poids moyens entre 18 et 28°C. La situation est différente chez les mâles, car à 23°C le poids moyen des moustiques mâles était significativement différent des poids aux autres températures (Fig. 12A).

À 200 lar./l, le poids des femelles était significativement différent seulement entre 18°C et les deux autres températures. Les poids des mâles étaient significativement tous différents entre eux et cela, à cette densité expérimentale seulement (Fig. 12B).

Finalement, à 400 lar./l chez les femelles, aucune différence significative de poids entre 23 et à 28°C n'a été trouvée. Entre 18 et 23°C et 18 et 28°C, une différence significative de poids est notée. Chez les mâles, la moyenne des poids des moustiques à 23°C se démarque de 18 et 28°C (Fig. 12C).

Le tableau X regroupe les différences significatives enregistrées entre les poids moyens aux différentes densités larvaires chez les deux sexes. Chez les femelles, le poids des moustiques adultes est inversement proportionnel à la température. Chez les mâles, la même observation s'applique, mais à 28°C aux trois densités, les poids prennent des valeurs plus élevées qu'à 23°C et parfois des valeurs plus élevées qu'à 18°C (Fig. 12A). Les valeurs à 28°C viennent modifier l'allure générale de la droite de régression.

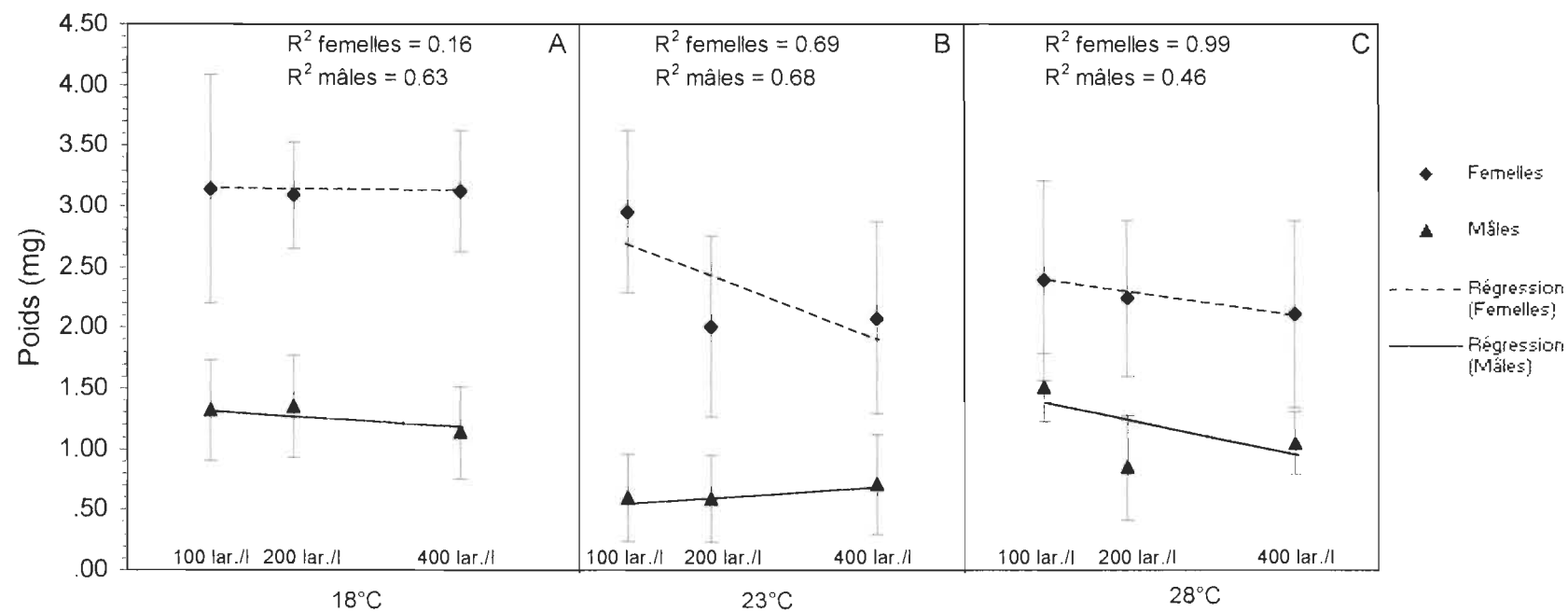


Figure 11. Valeurs observées des poids moyens des mâles et femelles d'*Aedes triseriatus* à 18 (fig. A), 23 (fig. B) et 28°C (fig. C) et leurs pentes de régression.

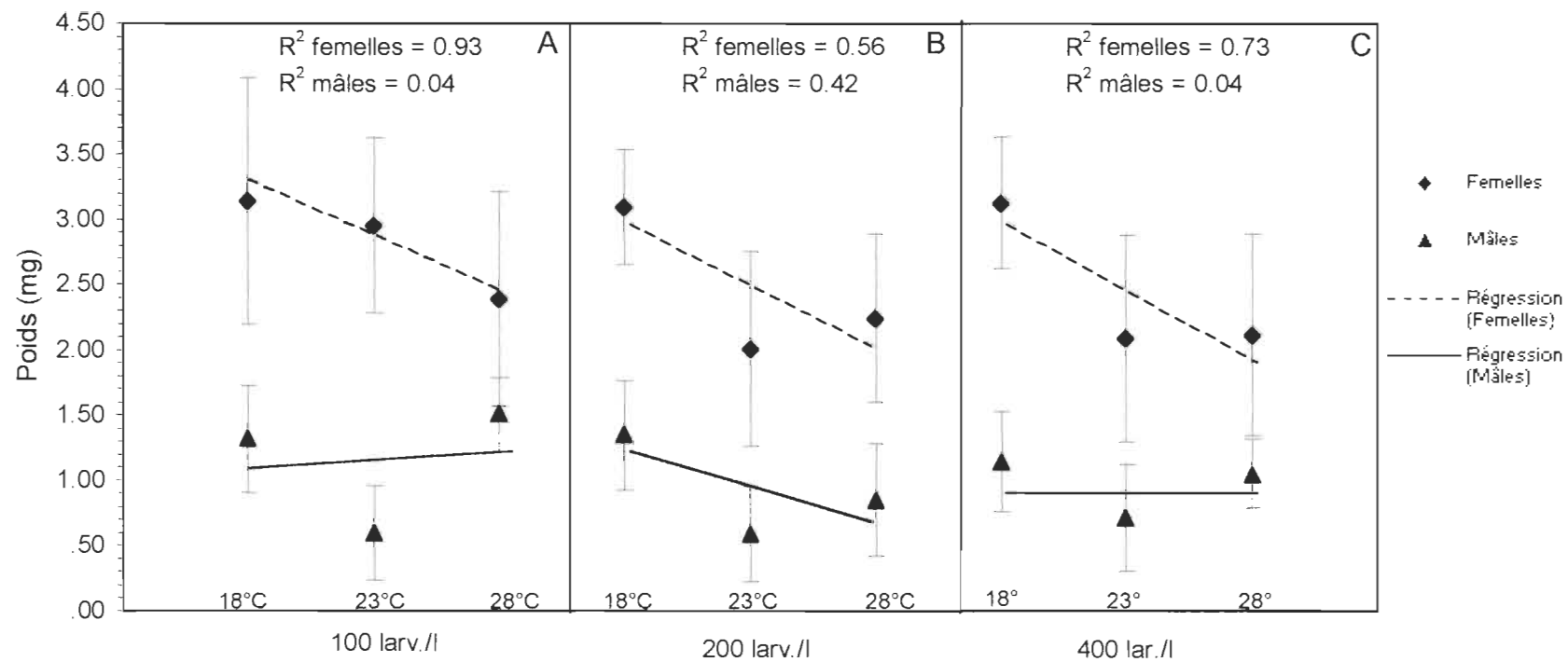


Figure 12. Valeurs observées des poids moyens des mâles et femelles d'*Aedes triseriatus* à 100 (fig. A), 200 (fig. B) et 400 (fig. C) larves par litre et leurs pentes de régression.

Tableau IX

Différences significatives entre les poids moyens aux différentes températures chez les mâles et les femelles d'*Aedes triseriatus*

Température (°C)	Densité (larves par litre)	Poids Mâles* (mg)	Ecart-type Mâles	Poids Femelles* (mg)	Ecart-type Femelles
18	100	1.32 ^a	0.41	3.14 ^a	0.94
23	100	0.60 ^b	0.36	2.95 ^{ab}	0.67
28	100	1.51 ^a	0.28	2.39 ^b	0.82
18	200	1.35 ^a	0.41	3.09 ^a	0.44
23	200	0.59 ^b	0.39	2.01 ^b	0.74
28	200	0.84 ^c	0.42	2.24 ^b	0.64
18	400	1.14 ^a	0.38	3.12 ^a	0.50
23	400	0.71 ^b	0.41	2.08 ^b	0.79
28	400	1.05 ^a	0.26	2.11 ^b	0.77

*Les lettres a, b et c en exposant désignent la présence ou non de différences significatives. Des lettres semblables signifient qu'aucune différence significative n'existe alors que des lettres différentes impliquent la présence d'une différence significative ($p < 0.05$).

Tableau X

Différences significatives entre les poids moyens aux différentes densités larvaires chez les mâles et les femelles d'*Aedes triseriatus*

Densité (larves par litre)	Température (°C)	Poids Mâles* (mg)	Ecart-type Mâles	Poids Femelles* (mg)	Ecart-type Femelles
100	18	1.32 ^a	0.41	3.14 ^a	0.94
200	18	1.35 ^a	0.41	3.09 ^a	0.44
400	18	1.14 ^a	0.38	3.12 ^a	0.50
100	23	0.60 ^a	0.36	2.95 ^a	0.67
200	23	0.59 ^a	0.39	2.01 ^b	0.74
400	23	0.71 ^a	0.41	2.08 ^b	0.79
100	28	1.51 ^a	0.28	2.39 ^a	0.82
200	28	0.84 ^b	0.42	2.24 ^a	0.64
400	28	1.05 ^c	0.26	2.11 ^a	0.77

*Les lettres a, b et c en exposant désignent la présence ou non de différences significatives. Des lettres semblables signifient qu'aucune différence significative n'existe alors que des lettres différentes impliquent la présence d'une différence significative ($p < 0.05$).

3.5 Répartition du sexe-ratio

A 100 lar./l et à toutes les températures d'expérimentation, les mâles sont plus nombreux. Le plus bas pourcentage d'émergence se situe à 18°C où 40% d'individus femelles ont émergé.

À 200 lar./l, le phénomène inverse s'observe, le nombre de femelles à 18°C étant le plus élevé suivi de 23°C et de 28°C.

À 400 lar./l à 18 et 23°C les proportions sont presque semblables et proches de 50%. À 28°C, on enregistre le plus haut pourcentage en faveur des femelles soit 56.3% (Fig. 13).

Aucune différence significative entre les sexes et la densité fut enregistrée (0.439, dl=2) ainsi qu'entre les sexes et la température ($X=0.854$, dl=2). Il n'y avait pas de différences significatives ($X=0.602$, dl=8) entre les sexes selon la température et la densité larvaire.

3.6 L'effet de conditions variables de croissance sur l'efficacité du *B.t.i.*

Cette partie regroupe les résultats obtenus à partir des larves soumises à des conditions de densité, de nourriture et de température qui diffèrent de la partie expérimentale sur la croissance.

La concentration à laquelle 50% des individus traités sont morts est exprimée en CL_{50} . A 23°C sous la densité de 150 lar./L, la CL_{50} a été la plus élevée des deux autres densités larvaires. C'est à 450 lar./L que la plus faible CL_{50} a été remarquée. La densité de 900 lar./L se trouve entre les deux autres densités de larves avec une valeur de CL_{50} se chiffrant plus près de la densité de 150 que de 450 lar./L (Tableau XI).

A 28°C, la CL_{50} sous la densité de 450 lar./L a été la plus élevée, la plus faible valeur de CL_{50} se situant à 150 lar./L. Finalement, la densité de 900 lar./L se retrouve, comme à 23°C, entre les deux autres densités larvaires, sa CL_{50} se chiffrant également plus près de la CL_{50} à 150 lar./L (Tableau XI).

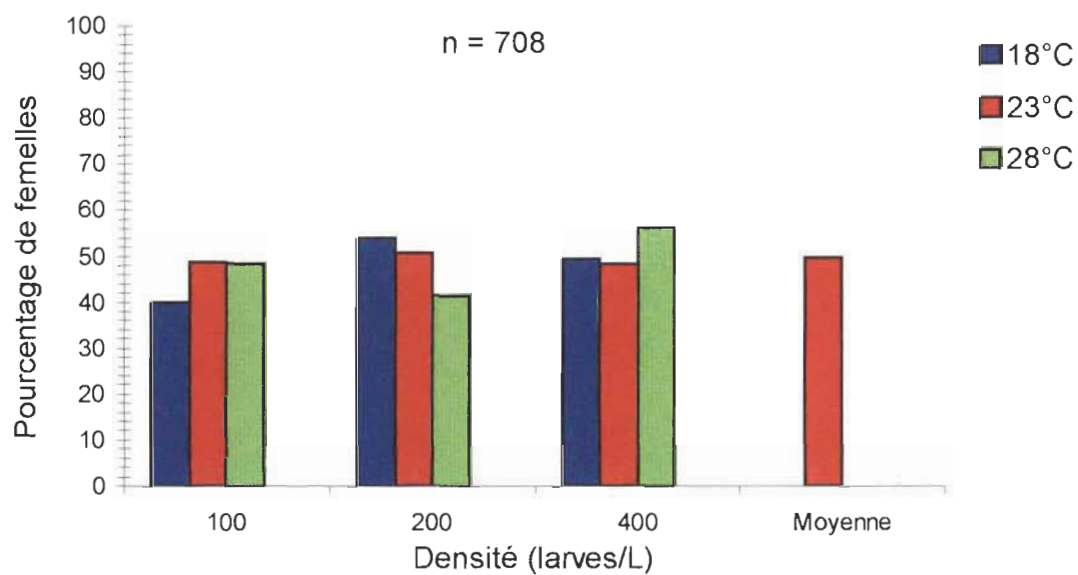


Figure 13. Répartition du sexe-ratio selon la densité à 18, 23 et 28°C.

Tableau XI

CL₅₀ à 23 et 28°C après 24 heures d'exposition au *B.t.i.*

Température (°C)	Densité (larves par litre)	CL ₅₀ (ppm)	Intervalle de confiance
23	150	0.691	(0.500 – 1.116)
28	150	0.583	(0.510 – 0.702)
23	450	0.528	(0.486 – 0.572)
28	450	0.792	(0.732 – 0.881)
23	900	0.659	(0.602 – 0.742)
28	900	0.641	(0.602 – 0.681)

De tous les bioessais effectués à 23°C et à 28°C, la CL₅₀ la plus basse se situe à la densité de 450 lar./l à 23°C. Pour la CL₅₀ la plus élevée, elle se situe également à 450 lar./l, mais à 28°C.

Les figures 14 à 18 représentent les droites probit pour chaque combinaison. Chacune d'elle est accompagnée de leur R² variant de 0.61 à 0.97.

Pour déterminer si les droites étaient significativement différentes entre elles, et par le fait même pour vérifier si la température, la densité et la disponibilité de la nourriture ont eu un effet significatif lors des traitements, des tests de parallélisme sur les pentes ont été utilisés (Tableaux XII à XIII).

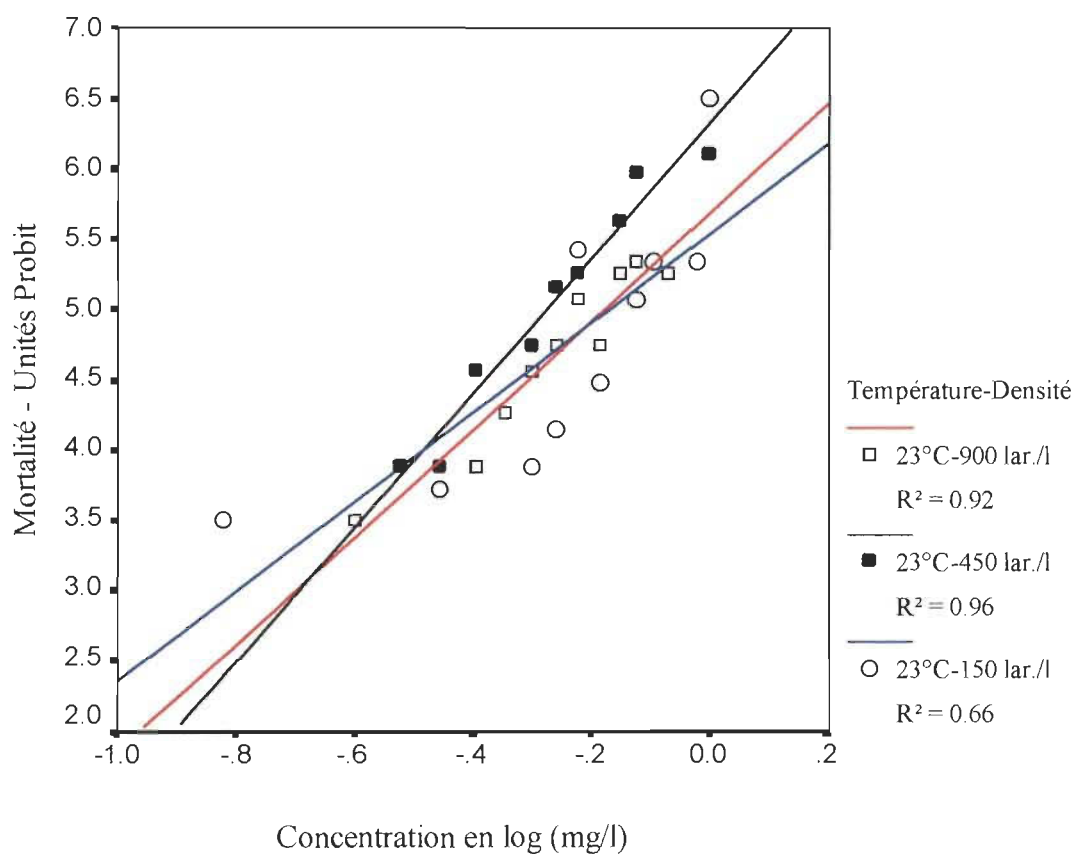


Figure 14. Relation linéaire entre le pourcentage de mortalité corrigée et la concentration de *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*; larves de troisième stade élevées à 150, 450 et 900 lar./l et exposées au *B.t.i.* pendant 24 heures à une densité de 25 lar./100 ml à 23°C.

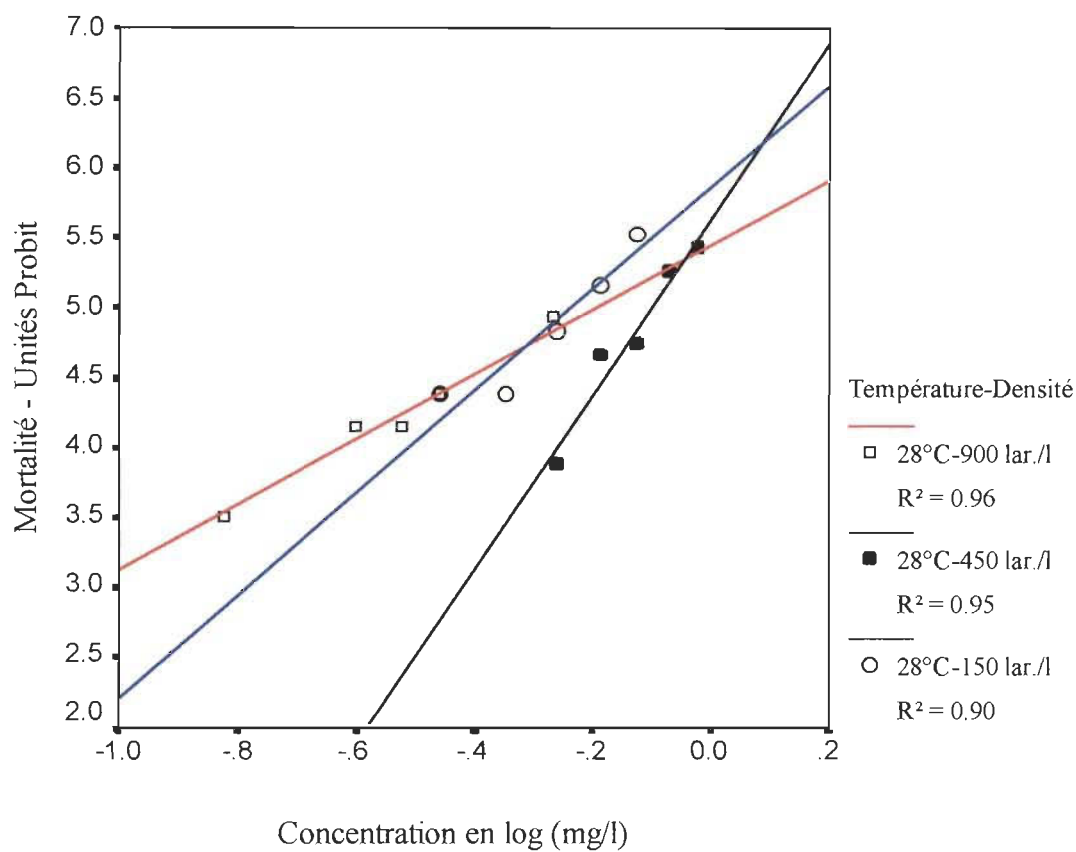


Figure 15. Relation linéaire entre le pourcentage de mortalité corrigée et la concentration de *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*; larves de troisième stade élevées à 150, 450 et 900 lar./l et exposées au *B.t.i.* pendant 24 heures à une densité de 25 lar./100 ml à 28°C.

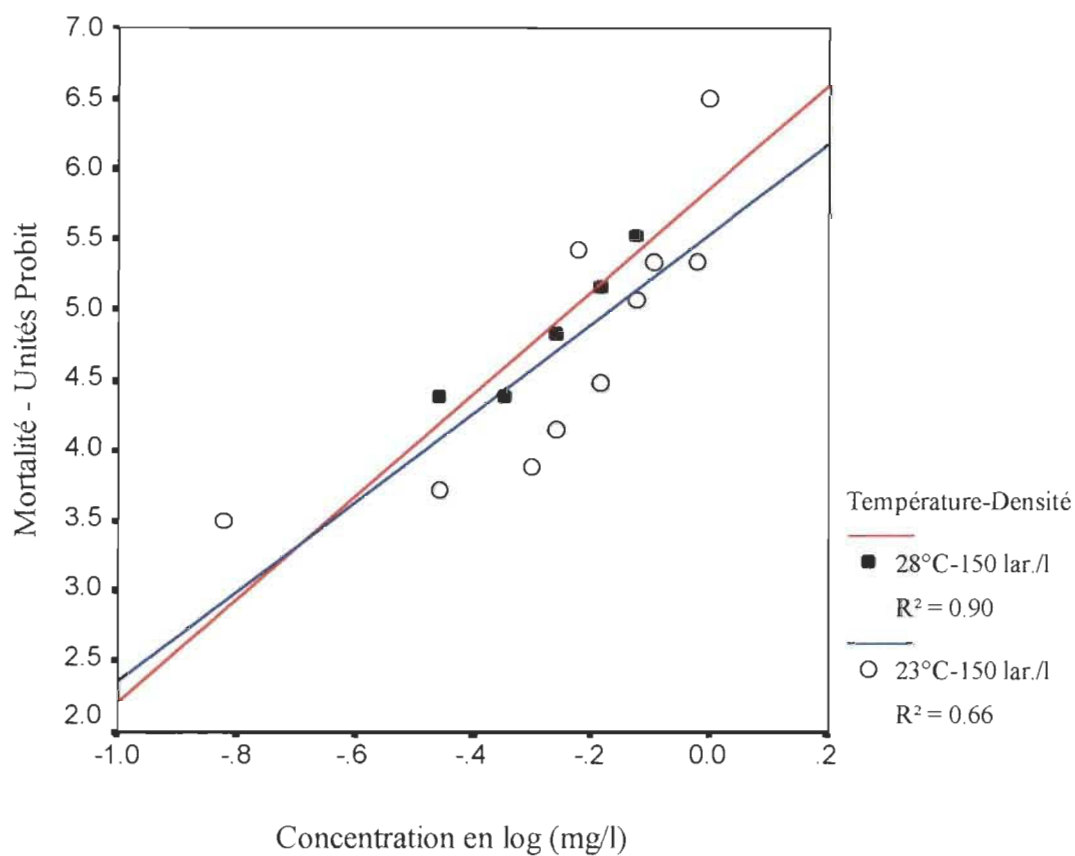


Figure 16. Relation linéaire entre le pourcentage de mortalité corrigée et la concentration de *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*; larves de troisième stade élevées à 150 lar./l et exposées au *B.t.i.* pendant 24 heures à une densité de 25 lar./100 ml à 23°C et 28°C.

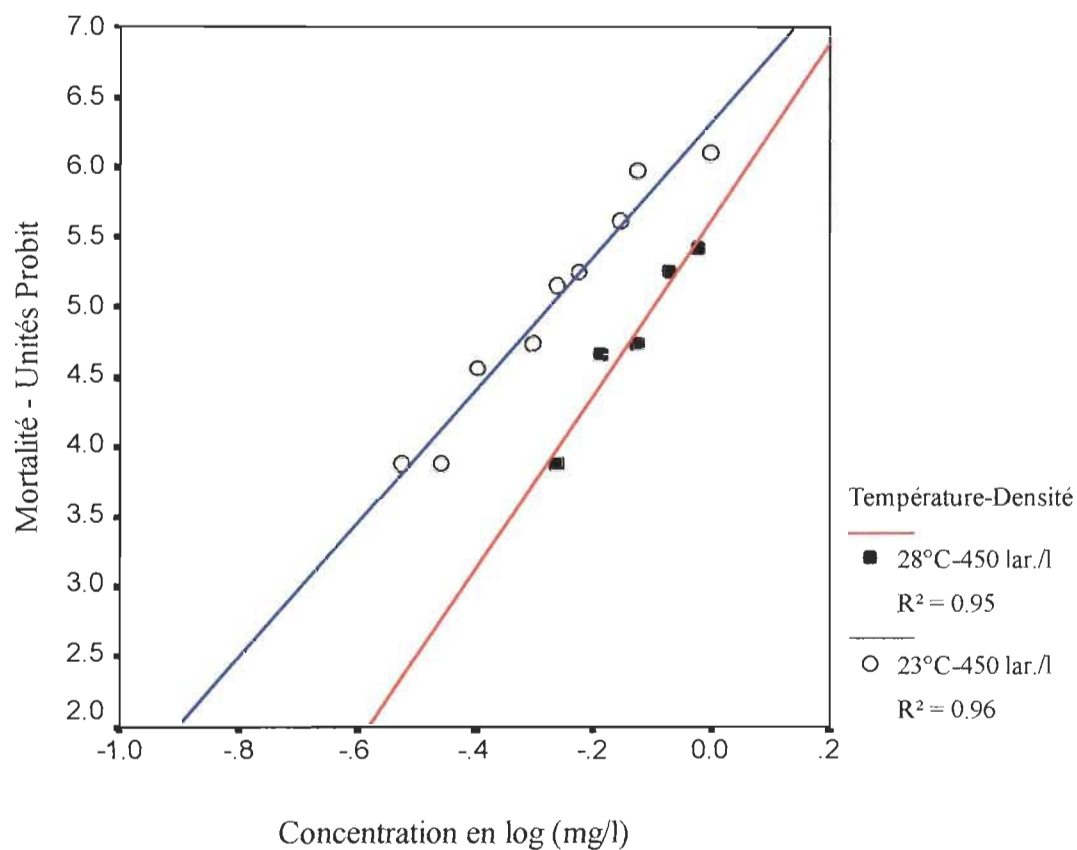


Figure 17. Relation linéaire entre le pourcentage de mortalité corrigée et la concentration de *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*; larves de troisième stade élevées à 450 lar./l et exposées au *B.t.i.* pendant 24 heures à une densité de 25 lar./100 ml à 23°C et 28°C.

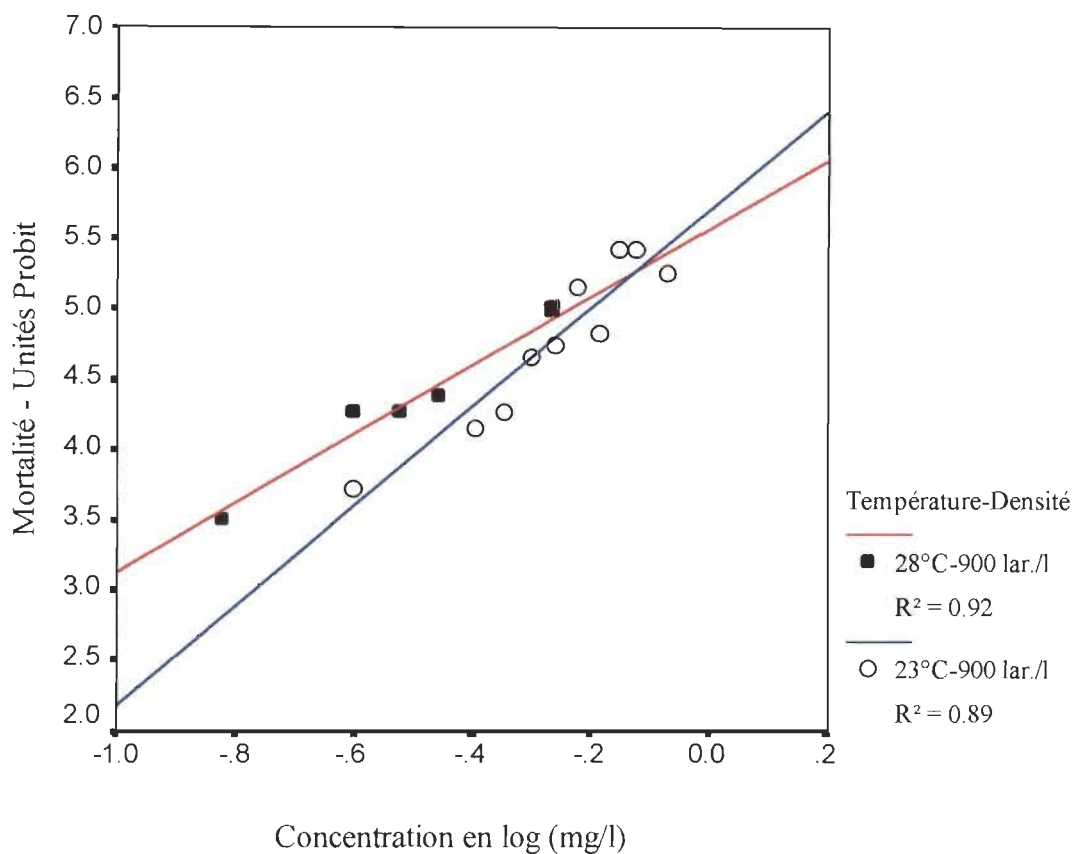


Figure 18. Relation linéaire entre le pourcentage de mortalité corrigée et la concentration de *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*; larves de troisième stade élevées à 900 lar./l et exposées au *B.t.i.* pendant 24 heures à une densité de 25 lar./100 ml à 23°C et 28°C.

Tableau XII

Tests de parallélisme sous 23 et 28°C après 24 heures

Comparaison	Probabilité à 23°C	Probabilité à 28°C
150 vs 450 larves par litre	0.001	0.129
450 vs 900 larves par litre	0.278	0.348
150 vs 900 larves par litre	0.099	0.027

Tableau XIII

Tests de parallélisme comparant les densités identiques sous des températures différentes après 24 heures

Comparaison	Probabilité
23°C à 150 vs 28°C à 150	1.000
23°C à 450 vs 28°C à 450	0.361
23°C à 900 vs 28°C à 900	0.200

DISCUSSION

Ce chapitre est consacré à l'analyse et à l'explication des résultats obtenus lors des expériences menées sur la croissance (temps de développement, mortalité, poids des moustiques, sexe-ratio) et sur l'effet de conditions favorables ou non chez *Ae. triseriatus* en regard de l'efficacité du *B.t.i.* utilisé comme agent de lutte.

4.1 Temps moyen de développement

Cette partie a permis de répondre à l'hypothèse relative à un effet de la densité ou de la température ou de leur interaction sur le temps de développement moyen d'*Aedes triseriatus*.

Dans cette section, nos résultats sont traités à la lumière des travaux déjà publiés sur le sujet. Le temps de développement total et le temps de développement de chacun des stades larvaires d'*Aedes triseriatus* furent étudiés par Jalil (1972). L'approche expérimentale que nous avons choisie diffère de celle utilisée par ce dernier auteur qui a étudié les développements sous plusieurs températures dont 20°C, 24°C et 28°C (Tableau XIV). Cependant, il utilisait une seule larve par tube d'élevage où le développement s'effectuait sans interaction possible entre les larves.

Les temps de développement observés dans notre étude ont été plus courts que ceux mentionnés par Jalil (1972). Plus on approche la température de 28°C, plus nos résultats se rapprochent de ceux de Jalil. Ainsi, à température élevée, l'effet de densité semble jouer un rôle moins important sur le temps de développement des larves. Cependant, les grands écarts de temps observés dans les deux études peuvent s'expliquer par le fait que l'eau des tubes était changée quotidiennement par Jalil pour éviter la prolifération de bactéries susceptibles de causer de la mortalité. En utilisant une seule larve par tube, des substances chimiques émises par les larves, telles que des retardateurs de croissance, n'ont pu entrer en contact avec d'autres

larves étant donné leur isolement. Dans notre expérience, l'eau était conservée tout au long des élevages en bacs et les larves étaient en contact avec plusieurs autres larves.

Les retardateurs de croissance sont des substances chimiques provenant des hydrocarbures de la cuticule et émises par certaines espèces de moustiques (Ikeshoji et Mulla, 1970a; Ikeshoji et Mulla 1970b). Ils peuvent être dispersés dans le milieu et allonger le temps de développement lorsque la densité larvaire est élevée. La littérature ne fait pas encore état de la présence de retardateurs de croissance chez *Ae. triseriatus*, mais des auteurs présumant que de telles substances sont manifestes chez cette espèce (Edgerly et Marvier, 1992).

Chez *Cx. sitiens*, le retrait des retardateurs de croissance par un changement quotidien de l'eau, a augmenté le taux de pupaison de 65% comparativement à 4% dans les témoins. Les retardateurs de croissance provoquent un ralentissement du métabolisme des larves et peuvent avoir comme avantage écologique de réduire les violentes fluctuations de populations entraînant des mortalités élevées et permettant aux larves survivantes de disposer d'une nourriture en quantité suffisante (Roberts, 1998).

Tableau XIV

Jours obtenus comparés aux résultats (italique et gras) de Jalil (1972)

Température (Densité)	Stade				Nymphe	Total
	1	2	3	4		
18°C (400 larves/L)	6.25	3.75	7.75	7.50	12.00	37.25
20°C (425 larves/L)	1.00	4.00	5.00	7.00	3.00	20.00
23°C (400 larves/L)	4.00	3.00	6.33	6.00	9.00	28.33
24°C (425 larves/L)	1.50	1.50	3.00	4.00	3.00	12.00
28°C (400 larves/L)	4.00	2.00	6.00	5.00	7.50	24.50
28°C (425 larves/L)	0.50	1.50	2.50	2.50	2.00	9.00

Pour sa part, Wada (1965) a conclu que lorsque *Ae. aegypti* était présent en haute densité, le temps de développement larvaire augmentait, ce que nous avons également observé et qui est

commun à plusieurs espèces. Une autre expérience (Tsuda *et al.*, 1997) vérifiant l'effet de densités élevées entre deux souches d'*Ae. albopictus* combinée à plusieurs densités, a été retenue pour fins de comparaisons (Tableau XV).

Tableau XV

Total des jours obtenus comparés aux résultats (italique et gras) de Tsuda (1997) sur *Ae. albopictus*

Température (Densité)	Total jours
28°C (100 larves/L)	15.75
27°C (107 larves/L)	15.60 à 19.00
28°C (200 larves/L)	23.25
27°C (214 larves/L)	26.50 à 29.50
28°C (400 larves/L)	24.50
27°C (428 larves/L)	33.10 à 33.80

Les temps obtenus par Tsuda et collaborateurs (1997) sont beaucoup plus proches des nôtres que ceux obtenus par Jalil (1972). La principale cause de ces résultats réside vraisemblablement dans l'effet de la densité retenue dans l'expérience avec *Ae. albopictus*. La densité crée des contacts entre les larves ce qui a pour effet d'influencer leur développement. Ces dernières semblent réagir de façon similaire à *Ae. triseriatus* lorsque soumises aux mêmes densités.

4.1.1 Temps moyen de développement des larves à 18, 23 et 28°C

Pour chacune des densités retenues, les différences de temps enregistrées, pour atteindre le stade adulte, sont plus importantes entre 18 et 23°C qu'entre 23 et 28°C. De plus, sous 23°C à une densité de 200 lar./l, les individus se développent plus lentement que sous 28°C. Mais, le test de Tukey nous a montré qu'entre 23 et 28°C, aux trois densités, aucune différence significative n'était présente. Ceci indique que les températures de 23 et 28°C ont un écart trop faible entre elles pour observer tout changement dans le temps de développement larvaire. En

termes écologiques, les larves s'étant développées sous 23 et sous 28°C ont subi un effet similaire du facteur « température ».

Entre 18 et 23°C, nous avons obtenu des écarts de 8.75 jours, de 11.08 jours et de 8.92 jours respectivement pour les densités de 100, 200 et 400 lar./l. Un écart de 5°C entre chacune des températures expérimentales ne signifie pas nécessairement que le nombre de jours de développement sera équivalent. Aussi, plus la température augmente, plus les différences de temps entre les diverses températures tendent à être moins marquées probablement parce qu'on approche du seuil limite où la larve est capable de compléter son développement.

Une expérience menée sur *Ae. aegypti* montre que le temps de transformation de ces larves est influencé tant par la température que par la disponibilité de nourriture toujours en quantité suffisante (Chambers & Klowden, 1990). Les larves se transforment en fonction de la température qui influence la vitesse à laquelle les réserves vont se constituer chez la larve.

Enfin, le type de nourriture semble influencer le temps de développement. Selon des études réalisées dans plusieurs laboratoires sur *Ae. aegypti*, la poudre de foie riche en protéines servie comme nourriture entraîne la production rapide de larves en 3 jours, alors qu'un mélange de biscuits pour chiens, riches en sucre, étire le développement jusqu'à sept jours (Skovmand *et al.*, 1998).

Les résultats nous permettent de conclure que sous les trois densités étudiées et sous une température plus basse (18°C), le temps de développement larvaire est plus lent que sous des températures élevées (23 et 28°C). La température a eu un effet significatif sur le temps de développement, ce qui confirme nos résultats anticipés.

4.1.2 Temps moyen de développement à 100, 200 et 400 larves par litre

A 18°C, la différence de temps de développement pour atteindre le stade adulte est plus grande entre les densités de 100 et 200 lar./l ($33.33 - 27.75 = 5.58$ jours) qu'entre celles de 200 et 400 lar./l ($37.25 - 33.33 = 3.92$ jours). Le même phénomène se produit à 28°C. A ces deux températures, il apparaît que l'écart entre les densités de 100 et 200 lar./l ait un effet plus important sur les larves que l'écart entre 200 et 400 lar./l. À 23°C, l'effet inverse s'est produit, c'est-à-dire l'écart de temps a été plus grand entre les densités de 200 et 400 lar./l qu'entre celles 100 et 200 lar./l.

La température optimale d'*Ae. triseriatus* se situe à 21°C; la condition expérimentale de 23°C sélectionnée dans notre étude est la plus proche de cette valeur. L'effet de cette température expérimentale agit probablement de façon différente sur le développement des larves que sous les températures de 18 et 28°C. On a également pu remarquer que les écarts types à 18 et à 28°C étaient plus élevées qu'à 23°C. Il se peut que ces écarts types embrouillent nos conclusions quant aux différences citées plus haut.

Il est reconnu que la densité joue un rôle de première importance dans le développement larvaire chez plusieurs espèces de moustiques (Clements, 1992). Notre expérience l'a confirmée pour *Ae. triseriatus*. Lorsque la densité augmentait, la durée de développement en faisait autant et ce, sans exception. Cette observation s'ajoute aux résultats rencontrés sur *Cx. sitiens* (Roberts, 1998), *Ae. albopictus* (Tsuda *et al.*, 1997), *Ae. sierrensis* (Broadie et Bradshaw, 1991) et *Ae. aegypti* et *Ae. albopictus* (Moore et Fisher, 1969).

A 18°C, la seule différence significative s'est manifestée entre les densités de 100 et 400 lar./l signifiant que la densité a joué un rôle moins important sur le temps de développement des larves que sous les deux autres températures expérimentales. À 23°C, les différences significatives étant entre 100 et 400 lar./l et entre 200 et 400 lar./l, il est possible de conclure

que les densités de 100 et 200 lar./l étaient probablement, à 23°C, trop rapprochées l'une de l'autre pour montrer des différences de temps notables. Enfin, à 28°C les différences significatives se situaient entre 100 et 200 lar./l et entre 100 et 400 lar./l signifiant par là que les densités de 200 et 400 lar./l sont trop voisines pour entraîner un effet de la densité sur les temps de développement larvaires.

En conclusion, selon la température, la densité a un effet significatif sur le temps de développement des larves, ce qui confirme notre hypothèse de départ. De plus, Chambers (1985) a trouvé, dans une expérience différente de la nôtre, que *Ae. triseriatus* élevé à haute densité (densité larvaire=240 lar./l), se développait plus lentement.

4.1.3 Interprétation de la régression linéaire

Aucune étude recensée dans la littérature scientifique ne fait mention d'une formule de prédiction sur le temps de développement des moustiques qui tient compte à la fois de la température et de la densité larvaire. Une formule de prédiction retenant seulement la température a déjà été établie (Trpis, 1972).

Notre formule peut être utile dans les élevages où le temps d'émergence des adultes est un facteur considéré. Elle doit être utilisée dans l'intervalle des températures 9°C et 32°C (Jalil, 1972), températures où le développement larvaire s'arrête. A noter que les résultats peuvent également être fonction des souches à l'étude (Trimble et Smith, 1978).

4.2 Temps de développement de chaque stade larvaire

La seule étude avec laquelle nous pouvons comparer nos résultats est celle de Jalil (1972). Dans les sections précédentes, plusieurs explications ont été amenées sur les différences retrouvées entre son étude et la nôtre. Cependant, quelques observations sont intéressantes à relever. En effet, les temps de développement de chacun des stades comportent des différences

marquées, principalement à cause du nombre de larves utilisées dans chacune des expériences respectives. Aux stades 2 et 4 les valeurs sont relativement semblables. Entre son étude et la nôtre, pour tous les autres stades, les différences sont frappantes surtout au stade nymphal. On explique ceci par le fait que Jalil a enregistré le temps qu'ont pris les 20 premières mues parmi ses 40 larves élevées individuellement. Notre expérience se déroulant dans un même récipient, il était impossible de procéder de la même façon; nous désirions créer une interaction entre les larves, ce que nous considérons plus réaliste.

4.2.1 Temps moyen de développement de chaque stade larvaire à 18, 23 et 28°C

Nous estimons que 18°C est très près de la température minimale pour un développement menant à terme des adultes de l'espèce, car lors de l'expérimentation certaines larves tardaient à achever leur développement complet. Pour les autres températures, les stades ont enregistré des durées prévisibles directement liées à la température d'élevage. Notre expérience, par l'établissement d'une formule prédictive (équation #2), permettra d'anticiper la durée de chacun des stades. Cette formule s'avère surtout pratique lors d'élevage de moustiques alors que l'atteinte d'un stade spécifique demeure un paramètre déterminant lorsqu'on pratique des bioessais. Lorsque les densités moyennes sont connues sur le terrain, elle peuvent être utiles afin d'épandre un insecticide biologique au moment opportun.

4.2.2 Temps moyen de développement de chaque stade larvaire à 100, 200 et 400 larves par litre

À 100 lar./l, nos attentes se sont avérées justes puisque presque tous les stades sous les trois températures ont obtenu une durée plus courte qu'aux autres densités. Seule la densité de 100 lar./l à 23°C au stade 1 a pris plus de temps qu'à 200 lar./l et le même temps qu'à 400 lar./l. A 100 lar./l sous 18°C, ce sont les stades 2 et 3 qui ont pris plus de temps qu'à 200 et 400 lar./l. En regard de nos données brutes, ces dernières nous confirment qu'à plus haute densité, les

stades prennent plus de temps à se compléter. On se serait attendu qu'à 400 lar./l tous les stades aient enregistré les temps les plus longs à cause de la forte densité, mais ce ne fut pas le cas. La compétition présente à cette densité a pu entraîner de la prédation abaissant la densité larvaire initiale et influençant la vitesse de développement.

De façon générale, le patron qui se dessine est qu'à densité élevée la majorité des stades prennent plus de temps à se compléter. Toutefois, pour les stades 2 et 4, les larves semblent avoir été dans de meilleures conditions à haute densité, leur temps de développement étant plus rapide qu'à densité intermédiaire (200 lar./l). Dans des conditions de températures restreignantes, à certains stades, les larves ont tiré profit des conditions d'élevage et se sont développées plus rapidement qu'envisagé. Nous considérons que leur développement plus rapide est un bénéfice pour l'espèce, car elle peut reproduire son espèce plus rapidement. Dans d'autres conditions moins propices à leur développement, certains stades larvaires se sont complétés plus lentement que prévu.

4.2.3 Interprétation biologique des analyses statistiques

Les différences significatives entre chacun des stades identiques ont été peu nombreuses dans les deux sections développées. Pourtant, les chiffres bruts nous montrent de façon évidente des différences dans le nombre de jours nécessaires au développement sous différentes conditions expérimentales. Les différences significatives moins nombreuses peuvent résider dans les grandes variations des données. En effet, la fin du stade nymphal de quelques larves de certains réplicats s'est passée plus lentement que dans d'autres réplicats. De plus, pendant le développement de chacun des stades, on ne pouvait éliminer les retardataires à cause de la procédure expérimentale. Une vérification quotidienne de chacune des larves aurait ajouter un facteur de stress considérable à celles-ci. Toutes les valeurs ont fait partie des analyses

statistiques et c'est peut-être pour une telle raison que les différences significatives sont demeurées peu nombreuses.

Il est probable, à certains stades et à certaines densités, que les larves aient été plus agressives entre elles et qu'une compétition plus forte ait engendré des mortalités entraînant la création d'un espace vital supérieur aux survivants. La température semble avoir eu un effet marquant sur presque tous les stades larvaires. Par ailleurs, l'effet de la densité fut variable selon les stades considérés.

4.3 Mortalités

Les mortalités survenues tout au long de l'expérience pourraient être attribuables à plusieurs facteurs. Parmi eux, le facteur génétique est à toujours à considérer. La souche utilisée dans l'élevage de moustiques a pu engendrer une population plus sensible à certaines conditions d'élevage. De plus, d'autres facteurs auraient pu de façon indépendante ou synergique, contribuer à créer de la mortalité. La qualité de la lumière, le film bactérien formé à la surface de l'eau à température élevée et la qualité de l'eau utilisée demeurent autant de facteurs ayant pu influencer de façon plus ou moins importante la survie larvaire.

Les analyses statistiques relatives à l'influence de la densité sur les mortalités nous avaient révélé que la densité n'influencait aucunement la mortalité. Une étude sur *Cx. sitiens* montre que l'augmentation de la densité larvaire réduit de façon significative la survie des larves (Roberts, 1998). Cependant, cette étude utilisait une nourriture disponible de façon limitative. Aussi, les larves d'*Ae. aegypti* élevées sous forte densité enregistrent de plus grandes mortalités (Wada, 1965). Une autre étude sur *Ae. aegypti* a montré que les mortalités s'élevaient au fur et à mesure que les densités augmentaient (Barbosa, 1972) alors que les larves avaient une quantité de nourriture constante peu importe les densités étudiées.

Nos conclusions sont semblables à ce qui fut trouvé à l'aide d'expériences menées sur *Ae. aegypti* et *Cx. quinquefasciatus* par Rueda (1990). Tout comme dans notre protocole, la nourriture administrée aux larves n'était pas limitative.

A la lumière des comparaisons, il s'avère que si la nourriture est limitative, la densité semble influencer la mortalité alors qu'en présence d'une nourriture abondante, elle ne n'influencerait pas.

Tableau XVI

Pourcentages de mortalités obtenus comparés aux résultats (en italique et gras) de Rueda sur *Ae. aegypti*

Température	Mortalité (%)
18°C	12.50
20°C	8.20
28°C	7.50
27°C	10.24

Nous avons envisagé qu'au moins un des facteurs était pour influencer le pourcentage de mortalité. Cette prédiction s'est avérée fausse, car ni la densité, ni la température ne semblent avoir eu d'influence. Même si Rueda (1990) a obtenu des résultats semblables aux nôtres, il nous apparaissait plausible qu'au moins une des densités, surtout celle de 400 lar./l, aurait pu créer de la mortalité et cela, même pour des larves nourries avec une nourriture toujours accessible.

4.4 Poids des moustiques adultes

4.4.1 Moyennes des poids à 18, 23 et 28°C

Haramis (1985) a observé qu'une relation inverse existe entre la température de l'eau et la taille des adultes d'*Ae. triseriatus*, qui elle, est corrélée au poids. Toutefois, la méthodologie

utilisée n'ayant pas été décrite, on peut supposer que certains facteurs inconnus pourraient être à l'origine de la différence obtenue entre cette étude et la nôtre. Il est connu que dans 83.5% des organismes vivants et dans 75% des insectes, une augmentation de la température mène à une réduction de la taille; ceci peut s'expliquer par le fait que les cellules, lorsque soumises à des températures élevées, ne prennent pas de volume ce qui se répercute directement sur la taille et par le fait même le poids de l'organisme (Atkinson, 1994).

Entre 18 et 23°C ainsi qu'entre 18 et 28°C, des différences significatives furent enregistrées signifiant alors que la température a eu un effet marqué sur le poids des moustiques. Pour de futures expériences, il serait souhaitable d'augmenter la différence entre 23°C et la température suivante, car lorsque l'on compare les poids aux différentes températures pour une même densité, on s'aperçoit que chez les femelles se développant entre 23 et 28°C elles n'accusent aucune différence significative. D'un point de vue épidémiologique, que les femelles se développent dans un milieu aux températures se situant entre 23 et 28°C, elles devraient transmettre les virus à une fréquence semblable. En effet, la taille du moustique influence la transmission des virus et si des différences significatives de poids ont été absentes durant leur croissance entre 23 et 28°C, on en conclut que les poids sont très proches les uns des autres. Ainsi, un virus donné se propagera similairement s'il a la même stabilité aux deux températures. Chez les mâles, des différences significatives entre 18 et 23°C et 23 et 28°C sont apparues. L'écart type des poids des mâles à la température intermédiaire (23°C) est très élevé comparativement aux deux autres températures. Ainsi, des spécimens possédant un poids plus important et d'autres très faibles ont coexistés dans les élevages. Cependant, au point de vue biologique, il semblerait qu'à 23°C, les mâles se comportent comme s'ils étaient sous une température transitoire, certains ayant enregistré un poids plus élevé, d'autres un poids plus faible.

Notre prédiction de départ s'est avérée exacte, la densité des larves d'*Ae. triseriatus* a un effet significatif sur le poids des moustiques tel que démontré par Wada (1965) sur *Ae. aegypti*. Les tests statistiques de Tukey nous ont montré où se situaient les différences. Il est intéressant de constater que même si l'espèce diffère, le poids des mâles d'*Ae. triseriatus* à 18°C est très près de celui des mâles d'*Ae. aegypti* à 20°C. A température élevée, les deux espèces ont des poids différents d'environ 50%. On observe le même phénomène chez les femelles sauf qu'à plus basse température, les femelles d'*Ae. aegypti* enregistrent un poids plus faible (Tableau XVII).

Tableau XVII

Poids obtenus comparés aux résultats (en italique et gras) de Rueda sur *Ae. aegypti*

Température - Sexe	Poids (mg)
18°C - Mâle	1.32
20°C - Mâle	1.29
28°C - Mâle	1.51
27°C - Mâle	0.76
18°C - Femelle	3.14
20°C - Femelle	2.07
28°C - Femelle	2.39
27°C - Femelle	1.19

4.4.2 Moyennes des poids à 100, 200 et 400 larves par litre

Même si Chambers (1985) a remarqué que des larves d'*Ae. triseriatus* élevées en haute densité faisait émerger des mâles de taille plus petite, nos analyses nous ont révélé des résultats beaucoup plus conservateurs. En effet, aux différentes densités retenues on prévoyait pour un sexe donné des différences significatives plus nombreuses. Seuls les mâles à 28°C aux trois densités expérimentales possèdent des poids significativement différents (Tableau X). On peut

en conclure qu'une différence significative de poids chez les mâles ne surviendrait que sous une température élevée.

En général, plus la densité augmentait, plus le poids des moustiques était faible pour les mâles et les femelles. Cependant, c'est probablement à cause des petites différences enregistrées entre les moyennes de poids que les résultats significativement différents ont été peu nombreux. Notre prédiction de départ s'est avérée exacte et il est possible d'affirmer que la température a un effet significatif sur le poids d'*Ae. triseriatus*.

4.4.3 Interprétation biologique des analyses statistiques

Pour ajouter à la compréhension des différents facteurs (sexe, température et densité) pouvant agir sur le poids des moustiques, l'analyse de variance effectuée sur les paramètres étudiés indique que le facteur le plus déterminant, lorsque l'on analyse le poids est le sexe des individus. Viennent ensuite en ordre d'importance, les facteurs « température » et « densité ». Comme on ne peut prédire le sexe des moustiques et le ratio de celui-ci avant que les larves ne se développent, nous nous attarderons un peu plus sur l'effet de la température et de la densité. Cependant, en inversant les variables de la formule de prédiction (régression linéaire), on peut estimer le poids des moustiques et prévoir s'il s'agira d'un mâle ou d'une femelle.

Les droites de régression montrent une tendance à la diminution du poids lorsque la densité augmente (Fig. 11) comme certains auteurs l'ont également rapporté (Broadie et Bradshaw, 1991). Il aurait été intéressant d'effectuer notre expérimentation à des densités plus élevées. C'est d'ailleurs pour cette raison qu'elles ont augmenté dans la partie expérimentale avec le *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*.

Ainsi, les femelles qui se développent sous de faibles densités sont plus susceptibles d'atteindre une forte taille. Les femelles de plus forte taille sont plus souvent pares et peuvent possiblement transmettre des virus plus fréquemment. Les faibles densités influencent

l'apparition de moustiques de plus forte taille (Nasci, 1988). Tel que mentionné en introduction, plusieurs facteurs (quantité de nourriture, espèce, etc.) peuvent aussi influencer l'atteinte d'une taille particulière.

Dans une autre étude, la variable « densité » fut la plus significative (Léonard et Juliano, 1995) ce qui diffère des résultats que nous avons obtenus. Il semble que la densité joue un rôle important selon l'environnement du moustique, mais que certains facteurs tels le type de nourriture, la fréquence des portions de nourriture ainsi que la durée lumineuse ont pu influencer l'effet du facteur « densité » au cours de notre expérimentation.

Le taux de survie des moustiques adultes issus des différentes densités aurait pu être calculé à l'aide d'une technique de suivie (Sinsko et Craig, 1979) vérifiant si les femelles de plus forte taille survivent plus longtemps. Cependant, les résultats d'une autre étude ont déjà révélé que le taux de survie des espèces *Ae. triseriatus* et *Ae. hendersoni* n'est pas fonction du poids des individus (Walker *et al.*, 1987).

La nourriture, même si elle était non limitative dans notre expérience, a pu jouer un rôle important sur le poids des moustiques à leur émergence. En effet, il est reconnu que le type de nourriture affecte le poids des adultes (Léonard et Juliano, 1995). Avec un mélange de feuilles broyées donné aux larves, le poids des mâles est plus grand qu'en l'absence d'un tel mélange. La taille des particules est également à considérer lorsque ce genre d'expérience est menée. En effet, les larves de premier stade ne se nourrissent que de particules inférieures à un micromètre alors que celles des autres stades ingèrent des particules de 2 à 25 micromètres (Merritt, 1987). Comme l'effet de ce paramètre n'a pas été considéré dans notre étude, mais que la nourriture était finement broyée et non limitative, nous considérons que les larves n'étaient pas en situation de carence alimentaire. Lors de l'observation des mortalités, des accumulations de particules sur les brosses labiales des larves ont été constatées, ce qui nous porte à croire qu'il y

aurait pu se produire des mortalités par asphyxie. Cependant, seul un nombre négligeable de cas semblables ont été détectés.

La formule que nous avons établie pourra servir à prédire un poids approximatif moyen à partir de la température. Il est important de préciser qu'elle s'appliquera mieux en laboratoire qu'en milieu naturel. En effet, les femelles d'*Ae. triseriatus* récoltées sur le terrain sont souvent plus petites que celles élevées en laboratoire probablement à cause de la compétition intense et des nutriments limités en milieu naturel (Haramis, 1983).

Cette formule tient compte seulement des facteurs « sexe » et « température ». Même si la densité s'est révélée significative, son effet est tellement faible qu'elle n'affecterait que très peu les valeurs prédites des poids. La formule déduite de l'analyse de régression doit utiliser les températures sous lesquelles les larves peuvent se développer jusqu'au stade adulte. Il faut ainsi utiliser des températures entre 9°C et 32°C (Jalil, 1972).

4.5 Répartition du sexe-ratio

Une expérience menée en nature montre que le sexe-ratio de *Cx. quinquefasciatus* tend en faveur des femelles lorsque les températures baissent. Certains mâles, parce que plus sensibles aux stress environnementaux et moins compétitifs, meurent à l'état larvaire. Ainsi, avec une nourriture non limitative, les hautes densités larvaires de *Cx. quinquefasciatus* n'ont montré aucun effet sur la répartition des sexes. Cela indique que le facteur limitant principal est la nourriture et non la densité larvaire (Suleman, 1982). Cela appuie le fait que la densité n'est pas un facteur aussi déterminant qu'on l'imaginait à l'origine, comme l'a d'ailleurs montré nos analyses de variance et de régression. Comme l'ont d'ailleurs montré d'autres auteurs, une interaction significative entre la densité et le sexe était présente chez *Ae. aegypti* (Barbosa *et al.*, 1972). Toutefois, la nourriture qui était limitative dans leur expérience a pu créer une interférence dans les résultats obtenus.

Certains mentionnent que le sexe est déterminé dès que le zygote est formé. Cependant, comme certaines espèces d'*Aedes* élevées sous des températures plus élevées telle que 28°C (Clements, 1992) peuvent voir leur déterminisme sexuel s'exprimer différemment pendant le stade larvaire, nous avons voulu vérifier si les températures utilisées avaient un effet marquant sur le sexe-ratio. Comme mentionné dans les résultats, aucune différence significative n'a pu être établie entre le sexe-ratio des moustiques et la température, la densité ou les deux facteurs combinés. Cela indique que le sexe des moustiques n'a pas été influencé par ces facteurs ou leur interaction.

Pour *Aedes triseriatus*, un sexe-ratio de 1:1 a prévalu. On s'attendait à obtenir à 28°C un pourcentage significativement plus élevé de femelles que de mâles. Chez *Aedes aegypti*, ce phénomène est observable; un gène récessif autosomal cause un changement chez les mâles qui se transforment, selon la durée d'exposition, en femelles.

4.6 L'effet de conditions variables de croissance sur l'efficacité du B.t.i.

4.6.1 L'effet après 24 heures à 23°C

On a voulu vérifier l'effet de l'insecticide biologique *B.t.i.* sur des larves où des conditions d'élevage variées étaient imposées: densité larvaire variable et quantité de nourriture non, moyennement ou très limitée.

Entre 150 et 450 lar./l à 23°C, une différence significative a été observée entre les droites de mortalités (Tableau XII). Puisque les larves à 150 lar./l n'ont pas vécu de stress de nourriture et de densité, il était prévisible qu'une différence existe entre les effets du *B.t.i.* sur des larves élevées à 450 lar./l (stress moyen de nourriture et de densité). L'analyse des pourcentages de mortalités entre 150 et 450 lar./l, révèle que pour une même concentration, une différence significative de mortalité d'au-delà de 30% fut enregistrée. Le stress lié à la densité de 450 lar./l

et à une nourriture en quantité moyennement limitée semble avoir été vécu difficilement par les larves qui sont mortes en plus grande quantité exposées à de faibles doses de *B.t.i.*.

Cependant, un fait inattendu, aucune différence significative n'est apparue entre les individus exposés à des densités d'élevage de 150 et 900 lar./l. Si on compare les pourcentages de mortalité entre les deux dernières densités, on s'aperçoit que la différence pour une même concentration est d'environ 10% ce qui ne semble pas avoir été assez important pour distinguer un effet significatif du *B.t.i.* envers les larves élevées à des stress différents. Les larves soumises à la densité défavorable de 900 lar./l et à une nourriture en quantité très limitée semblent donc avoir été avantagées face aux doses de *B.t.i.* L'étude de Broadie et Bradshaw (1991) procure un appui de taille à l'hypothèse que nous avançons. En effet, cette équipe a montré dans une étude examinant l'effet de la compétition (sans *B.t.i.*), qu'une densité élevée crée chez les larves des contacts physiques plus grands et une compétition intraspécifique plus marquée, agissant comme un fort inhibiteur à la consommation de nourriture. Si on applique cette hypothèse à nos résultats obtenus entre les densités de 150 et 900 lar./l, on en déduit que les larves élevées à une densité de 900 lar./l ont ingéré moins de *B.t.i.*, ce qui a abaissé leur pourcentage de mortalité. Pour ce qui est de l'effet de populations élevées en hautes densités (« overcrowding »), l'étude menée par Farghal *et al.* (1983) sur *Cx. pipiens molestus* et *Theobaldia longiareolata*, a vérifié l'effet de densités variées en rapport avec l'efficacité du *B.t.i.* Leurs résultats ont montré que sous des densités plus élevées, les larves toléraient mieux l'effet du *B.t.i.* alors que celles élevées en faibles densités étaient rapidement affectées par l'insecticide. Dans notre étude, les larves se développaient pendant trois stades consécutifs avant de vérifier l'effet de la densité sur l'efficacité du *B.t.i.* De plus, dans l'expérience de Farghal *et al.* (1983), le *B.t.i.* était ingéré au même titre que la poudre de foie que nous avons aussi administrée. Il est prévisible qu'à une densité plus faible, les larves meurent plus rapidement puisque l'approvisionnement en nourriture était plus facilement accessible. De plus,

la nourriture était présente en grande quantité contrairement aux larves élevées sous de fortes densités.

On avance que les larves élevées sous une densité faible et forte ingèrent probablement des quantités semblables de *B.t.i.*. A la lumière de nos résultats, nous notons que les larves qui vivent sous des densités élevées sont moins affectées par le *B.t.i.* parce qu'elles se nourrissent moins. Toutefois, une carence trop prononcée peut compromettre leur survie. Dans les deux cas, les larves vivant sous de faibles et de fortes densités, mises en contact au *B.t.i.*, possèdent une survie précaire.

Entre les densités de 450 et 900 lar./l, nos données révèlent que sous la plus forte densité, les pourcentages de mortalité sont moins élevés que sous une densité de 450 lar./l, rejoignant l'hypothèse avancée par Broadie et Bradshaw (1991). Cependant, les différences de mortalité enregistrées entre ces densités n'ont pas été assez marquées pour observer une différence significative entre les valeurs obtenues. Toutefois, le stress que nous avons appliqué aux larves a bel et bien été ressenti. Si les conditions défavorables de nourriture et de densités n'avaient pas été vécues par les larves, nous aurions obtenus des résultats similaires à Sinègre et collaborateurs (1981) qui ont observé que lorsque la densité larvaire doublait, la CL_{50} doublait également.

Ce qui surprend, c'est qu'avec l'hypothèse que nous formulons, la densité de 150 lar./l se retrouve étant la moins affectée par le *B.t.i.* alors qu'elle aurait dû l'être plus par les petites doses. A une densité de 150 lar./l, la compétition intraspécifique était à son plus faible et la densité n'agissant pas comme un inhibiteur à la consommation, les larves auraient dû se nourrir du *B.t.i.* jusqu'à satiété. C'est la densité de 450 lar./l qui s'est présentée la plus sensible aux doses de *B.t.i.* De plus, une explication concernant la sensibilité moins grande au *B.t.i.* des larves soumises à une densité de 150 lar./l pourrait résider dans les conditions initiales appliquées aux larves. En effet, à cette densité, les larves pouvaient ingérer les quantités

nécessaires de nourriture sans qu'elles en soient privées. Elles devaient ensuite être presque rassasiées une fois transférées dans les contenants à bioessais. Elles ont dû ingérer moins de cristaux que les deux autres densités qui étaient soumises à des quantités moindres de nourriture.

Il faut cependant rester prudent avec ces résultats, puisque les intervalles de confiance des différentes CL_{50} à 23°C se chevauchent indiquant que certaines valeurs auraient pu être considérées plus sensibles qu'une autre.

4.6.2 L'effet après 24 heures à 28°C

Sous 28°C, des contradictions apparaissent par rapport à 23°C. En effet, entre les densités de 150 et de 450 lar./l, aucune différence significative n'a été enregistrée signifiant par là que les conditions vécues par les deux groupes d'individus ont été relativement semblables. Ce sont les larves soumises à la densité de 150 lar./l qui ont enregistré le pourcentage de mortalité le plus élevé aux doses les plus faibles de *B.t.i.* signifiant qu'elles étaient plus sensibles à ce dernier même si aucune condition défavorable de densité ou de nourriture n'était présente.

Il est possible, en condition d'élevage de 900 lar./l (quantité très limitée de nourriture), que le cannibalisme ait eu un impact (Koenekoop et Livdahl, 1986). Comme les larves étaient incubées à 28°C et que leur métabolisme était accéléré, certaines d'entre elles auraient pu manquer de nourriture, entraînant une baisse de la densité initiale de 900 lar./l à 450 lar./l. Ceci expliquerait pourquoi la densité de 450 lar./l s'est retrouvée comme étant la moins sensible une fois soumise au *B.t.i.*. Pour sa part, Chambers (1985) a observé que les densités élevées provoquent une augmentation du taux de mortalité.

A l'intérieur des bioessais à 28°C, le cannibalisme a pu également avoir lieu. Ainsi, les larves qui se sont nourries de larves mortes ayant ingéré du *B.t.i.* ont pu mourir à leur tour (Zaritsky et Khawaled, 1986). En effet, la probabilité qu'il y ait eu resporulation subsiste.

Même si elle est considérée rare, rappelons que la resporulation résulte d'une abondance de spores dans la carcasse des larves et dans le milieu immédiat (Aly, 1985; Aronson, 1994).

Nous croyons que la température a également pu avoir un effet marquant sur leur développement, principalement sur l'ingestion de nourriture (cristaux de *B.t.i.*) lors des bioessais. A 28°C, le métabolisme des larves est plus rapide qu'à 23°C. Les larves semblent alors se nourrir davantage à température élevée, spécifiquement dans les faibles densités. En effet, la densité larvaire de 150 lar./l s'est retrouvée la plus sensible au *B.t.i.*. C'est vraisemblablement pour cette raison que de plus fortes mortalités ont été enregistrées à des doses de *B.t.i.* plus faibles. De plus, il est reconnu que les températures élevées peuvent affecter les larves, allant même jusqu'à produire des inversions de sexe chez certains individus (Clements, 1992). Egalement, une étude sur les similies montre que plus la température est élevée, plus le *B.t.i.* devient efficace (Lacoursière et Charpentier, 1988). L'activité toxique du *B.t.i.* face à la température de l'eau où baignent les larves, agit généralement de façon analogue sur les larves de moustiques et de mouches noires (Walker, 1995).

Cependant, les résultats de nos tests de parallélisme nous font réfléchir sur l'écart de température entre 23°C et 28°C qui n'aurait pas été assez important pour influencer la mortalité de façon significative lorsque le *B.t.i.* était appliqué. Becker *et al.* (1992) ont en effet observé chez des larves de deuxième stade d'*Ae. vexans*, une sensibilité dix fois plus grande à 25°C comparativement à 5°C. Cette sensibilité diminuait lorsque l'écart de température diminuait également. Ainsi, à 25°C la sensibilité était 4 fois plus grande qu'à 8°C et 15°C. Enfin, entre 8°C et 15°C, soit un écart de 7°C, aucune différence n'a pu être observée dans leur étude. Puisque la nôtre concernait un écart de 5°C, nous supposons que l'effet de ce dernier pourrait être en cause.

Il est également possible que le pH, qui a été reconnu comme influençant l'efficacité du *B.t.i.* (Lacoursière et Charpentier, 1988), ait joué un rôle sur le comportement des larves dans

l'ingestion des toxines. Nous supposons que le pH a été différent d'un bac à l'autre compte tenu des différentes conditions retenues (quantités de nourriture et densités larvaires). Une fois les larves transportées dans les pots d'expérimentation, l'eau utilisée était la même pour toutes les larves soumises au *B.t.i.*. Toutefois, le pH a pu influencer leur développement et avoir été un facteur ayant pu engendrer un stress plus élevé ou plus bas selon les densités d'élevage.

Finalement, la nourriture administrée aux larves dans les bacs a pu créer des mortalités non souhaitées, surtout à température plus élevée où l'ajout de nourriture aurait favorisé la prolifération de microorganismes. D'ailleurs, certains parasites tels des protozoaires (*Vavraia culicis*, *Ascogregarina barretti*, *Edhazardia aedis*), des champignons (*Smittium culisetæ*) et des bactéries (*Vibrio* sp.) peuvent infecter *Ae. triseriatus* comme le rapporte le relevé des parasites affectant les moustiques dans la région centrale nord de la Floride (Fukuda *et al.*, 1997; Becnel et Johnson, 1993).

Ainsi, avant d'appliquer du *B.t.i.* sur le terrain, nous suggérons d'effectuer une étude sur les densités larvaires présentes sur le site concerné. Ceci diminuerait les quantités à utiliser et favoriserait des coûts d'exploitation moindres. Il faudrait, cependant, établir un programme permettant de gérer cette opération pour que les coûts de dépistage et d'épandage soient égaux ou plus faibles que le coût d'achat de l'insecticide biologique. A noter que les CL_{50} de notre étude, si elles sont utilisées sur le terrain, doivent l'être avec le Teknar HP-D®. En effet, une étude portant sur différents insecticides montre que les CL_{50} dépendent souvent du type et de la grosseur des particules (poudre, granules, liquide) de *B.t.i.*. Les mortalités chez les larves sont plus influencées par la taille des particules que par le type de *B.t.i.* (Skovmand *et al.*, 1997).

CONCLUSION

Les moustiques sont, depuis plusieurs décennies, l'objet d'intenses recherches qui ont porté tant sur la biologie des larves et des adultes que sur leur comportement, leur anatomie et tout ce qui concerne le cycle vital des moustiques. Un des buts principaux de ces recherches est de pouvoir contrôler plus efficacement les maladies transmises par certaines de leurs espèces. Cependant, les nombreuses exportations de produits alimentaires et les milliers de transports qui sont effectués quotidiennement par l'être humain, permettent aux moustiques de tenter d'occuper de nouvelles niches écologiques. Les espèces exotiques qui vont se prévaloir de ces niches peuvent transporter des virus parfois capables de survivre aux nouvelles conditions climatiques. Comme les moustiques sont répartis en une multitude d'espèces et qu'ils n'ont pas tous été étudiés, notre attention s'est portée sur une espèce présente sur notre territoire, qui un jour, pourrait devenir une cause de problèmes en santé publique.

La première partie de notre étude portait sur une recherche fondamentale qui permettra aux chercheurs qui continueront à travailler sur l'espèce, de mieux prédire les réactions d'*Ae. triseriatus* face aux stimuli que nous leur avons imposés.

Dans le cadre d'un programme de lutte biologique, le temps de développement total des moustiques est une donnée essentielle à connaître, tant en laboratoire que pour le milieu naturel. *Ae. triseriatus* voit son temps de développement influencé par la température et la densité. Le temps de développement est inversement proportionnel à la température et proportionnel à la densité larvaire. Pour chacun des stades, de façon générale on observe également que le temps de développement est inversement proportionnel à la température et proportionnel à la densité larvaire. Chaque stade est parfois influencé par la température, parfois par la densité, parfois par les deux.

Comme on l'observe dans le monde animal, les températures et les densités élevées de populations sont cause de mortalité. Nous avons ainsi envisagé que les larves se seraient également comportées de la même façon. Ni la température, ni la densité n'ont semblé avoir une influence sur la mortalité larvaire. Nous présumons que la nourriture en quantité non limitée fut la cause de cette dernière.

Le poids des moustiques est influencé, en ordre croissant d'importance, par le sexe, la température et la densité larvaire. Comme le poids des moustiques est lié au sexe et que ces paramètres semblent presque indissociables, ce résultat était prévisible. La tendance chez les femelles est que le poids des adultes est inversement proportionnel à la température. Chez les mâles, le poids a vu ses valeurs fluctuer différemment des femelles où les valeurs de poids étaient très près entre 18 et 28°C. Pour la densité larvaire, elle a eu une très faible influence, comme l'ont montré les droites de régression.

La température expérimentale la plus élevée a eu le même effet sur le sexe-ratio que les deux autres températures. L'effet de la densité larvaire est apparue également négligeable sur le sexe-ratio.

Les études en milieux naturels sont plus difficiles à mener puisque plusieurs facteurs peuvent intervenir dans le développement des larves et dès qu'un des facteurs n'est pas pris en compte, les résultats doivent toujours être interprétés avec prudence. De plus, des variations entre les différents milieux naturels peuvent facilement inclure des facteurs aux valeurs éloignées de la moyenne.

Vorgettts *et al.* (1988) ont étudié l'effet des différentes densités utilisées lors de bioessais vérifiant l'efficacité du larvicide *B.t.i.* envers des larves d'*Ae. aegypti*. Ils en sont venus à la conclusion que la mortalité était fonction seulement de la quantité de *B.t.i.* présente dans le milieu. Cependant, aucun stress ne leur était imposé avant leur utilisation dans les

bioessais. C'est dans un protocole s'y rapprochant, mais avec des conditions différentes, que nous avons effectué notre expérience. Les comparaisons des résultats se sont avérées difficiles principalement à cause des différentes méthodologies et formulations de *B.t.i.* que les auteurs utilisent. Les résultats finaux nous indiquent que le *B.t.i.* varie dans son efficacité sur les larves selon les conditions plus ou moins favorables qui leur ont été imposées. L'hypothèse principale retenue : les larves élevées en haute densité sont sujettes à une compétition intraspécifique intense ayant pour effet de diminuer fortement la prise de nourriture sous forme naturelle ou artificielle (cristaux de *B.t.i.*).

REFERENCES

- Abbott, W.S. (1925). A method of computing the effectiveness of an insecticide. Journal of Economic Entomology, 18, 265-267.
- Acha, P.N., et Szyfres B. (1989). Zoonoses et maladies transmissibles communes à l'homme et aux animaux (2^e édition). Paris: Office international des épizooties.
- Aly, C. (1985). Germination of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* spores in the gut of *Ae.* larvae (Diptera: Culicidae). Journal of Invertebrate Pathology, 45, 1-8.
- Aronson, A. I. (1994). *Bacillus thuringiensis* and its use as a biological insecticide. In J. Janick (Ed), Plant Breeding Reviews (pp. 19-43). New-York: John Wiley & Sons.
- Atkinson, D. (1994). Temperature and organism size – a biological law for ectotherm? Advances in Ecological Research, 25, 1-58.
- Back, C., Boisvert, J., Lacoursière, J.O., et Charpentier, G. (1985). High-dosage treatment of a Quebec stream with *Bacillus thuringiensis* serovar. *israelensis*: Efficacy against black fly larvae (Diptera: Simuliidae) and impact on non-target insects. Canadian Entomologist, 117, 1523-1534.
- Barbosa, P, Peters, M., et Greenough, N.C. (1972). Overcrowding of mosquito populations: responses of larval *Aedes aegypti* to stress. Environmental Entomology, 1, 89-93.
- Barrera, R. (1996). Competition and resistance to starvation in larvae of container-inhabiting *Aedes* mosquitoes. Ecological Entomology, 21, 1117-1127.

- Becker, N. (1991). Microbial control of blood-sucking diptera. In Ludovit Weismann, Ivan Országh and Adrian C. Pont (Eds.), Proceedings of the Second International Congress of Dipterology. (pp. 27-38). Hague: SPB Academic Publishing bv.
- Becker, N., Zgomba, M., Ludwig, M., Petric, D., et Rettich, F. (1992). Factors influencing the activity of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* treatments. Journal of the Mosquito Control Association, 8, 285-289.
- Becnel, J.J., et Johnson, M.A. (1993). Mosquito host range and specificity of *Edhazardia aedis* (Microspora: Culicosporidae). Journal of the American Mosquito Control Association, 9, 269-274.
- Beier, J. C., Travis, M., Patricoski C., et Kranzfelder, J. (1983). Habitat segregation among larval mosquito (Diptera: Culicidae) in tire yards in Indiana, USA. Journal of Medical Entomology, 20, 76-80.
- Belloncik, S., Aubin, A., Maire, A., Boisvert, J., Gagnon, R., Th'ng, C., Trudel, C., et Artsob, H. (1983). Arbovirus studies in the Trois-Rivières area, province of Quebec, Canada. Mosquito News, 43, 426-431.
- Belloncik, S., Poulin, L., Maire, A., Aubin, A., Fauvel, M., et Jousset, F.X. (1982). Activity of California encephalitis group viruses in Entrelacs (Province of Quebec, Canada). Canadian Journal of Microbiology, 28, 572-579.
- Belzile, C. (1991). Effet de la densité et de la température sur le développement larvaire et la taille adulte de *Ae. triseriatus* (Diptera: Culicidae). Thèse de maîtrise en Sciences de l'environnement. Université du Québec à Trois-Rivières, Canada.
- Bentley, M.D., et Day, J.F. (1989). Chemical ecology and behavioral aspects of mosquito oviposition. Annual Review of Entomology, 34, 401-421.

- Boisvert, M., et Boisvert, J. (2000). Effects of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* on target and nontarget organisms : A review of laboratory and field experiment. Biocontrol Science and Technology (accepté pour publication).
- Bourassa, J.P., Maire, A., et Belloncik, S. (1992). Espèces culicidiennes colonisant les pneus abandonnés dans l'environnement québécois et impact potentiel sur la santé humaine et animale. Mémoire de la Société Royale Belge d'Entomologie, 35, 89-95.
- Broadie, K.S., et Bradshaw, W.E. (1991). Mechanisms of interference competition in the western tree-hole mosquito, *Aedes sierrensis*. Ecological Entomology, 16, 145-154.
- Carpenter, S.R. (1983). Resource limitation of larval tree-hole mosquitoes subsisting on beech detritus. Ecology, 64, 219-223.
- Chambers, R.C. (1985). Competition and predation among larvae of three species of treehole-breeding-mosquitoes. In Lounibos, L.P., Rey, J.R., et Frank, J.H. (Eds.), Ecology of Mosquitoes : proceedings of a workshop. Florida : Florida Entomology Laboratory.
- Chambers, G.M., et Klowden, M.J. (1990). Correlation of nutritional reserves with a critical weight for pupation in larval *Aedes aegypti* mosquitoes. Journal of American Mosquito Control Association, 6, 394-399.
- Clements, A.N. (1992). The biology of mosquitoes. London: Chapman & Hall.
- Coombs, R. (1993). *Bacillus thuringiensis*: The success story continues. Agro-Food-Industry Hi-Tech, 4, 7-9.
- Craig, G.B. (1983). Biology of *Ae. triseriatus*: Some factors affecting control. California Serogroup Viruses, 123, 329-341.

- Darsie, R.F.Jr., et Ward, R.A. (1981). Identification and geographical distribution of the mosquitoes of North America, North of Mexico. California: American Mosquito Control Association.
- Edgerly, J.S., et Livdahl, T. (1992). Density-dependent interactions within a complex life cycle: The roles of cohort structure and mode of recruitment. Journal of Animal Ecology, 61, 139-150.
- Edgerly, J.S., et Marvier, M. (1992). To hatch or not to hatch? Egg hatch response to larval density and to larval contact in a treehole mosquito. Ecological Entomology, 17, 28-32.
- Edwards, J.F., Higgs, S., et Beaty, B.J. (1998). Mosquito feeding-induced enhancement of Cache Valley virus (Bunyaviridae) infection in mice. Journal of Medical Entomology, 35, 261-265.
- Farghal, A.I., Ashour Ahmed, S., et Salit, A.M. (1983). Effect of overcrowding on the biolethal efficacy of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* against *Culex pipiens molestus* and *Theobaldia longiareolata* larvae. Journal of Applied Entomology, 95, 457-460.
- Finney, D.J. (1971). Probit analysis (3rd ed.). New-York: Cambridge University Press.
- Florida Coordinating Council on Mosquito Control. (1998). Florida Mosquito Control: The state of the mission as defined by mosquito controllers, regulators, and environmental managers. Florida: University of Florida.
- Fukuda, T., Willis, O.R., et Barnard, D.R. (1997). Parasites of the Asian Tiger Mosquito and other container-inhabiting mosquitoes (Diptera: Culicidae) in north central Florida. Journal of Medical Entomology, 34, 226-233.

- Garcia, R., DesRochers B., et Tozer, W. (1982). Studies on *B. thuringiensis* var. *israelensis* against mosquito larvae and other organisms. *In: 49th annual conference in California of Mosquito & Vector Control Association*, 50, 25-29.
- Gettman, A.D., et Hall, D.W. (1989). A modification of scrap tires for field studies of artificial container-breeding mosquitoes. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 5, 439.
- Gill, S.S., Cowles, E.A., et Pietrantonio, V. (1992). The mode of *Bacillus thuringiensis* endotoxins. *Annual Review of Entomology*, 37, 615-636.
- Gilpin, M.E., et McClelland, G.A.H. (1979). System analysis of the yellow fever mosquito *Ae. aegypti*. *Fortschritte der Zoologie*, 25, 355-388.
- Goldberg, L.J., et Margalit, J. (1977). A bacterial spore demonstrating rapid larvicidal activity against *Anopheles sergentii*, *Uranotaenia unguiculata*, *Culex univitattus*, *Aedes aegypti* and *Culex pipiens*. *Mosquito News*, 37, 355-358.
- Grimstad, P.R., et Walker, E.D. (1991). *Ae. triseriatus* (Diptera: Culicidae) and La Crosse virus. IV. Nutritional deprivation of larvae affects the adult barriers to infection and transmission. *Journal of Medical Entomology*, 28, 378-386.
- Grimstad, P.R., et Haramis, L.D. (1984). *Aedes triseriatus* (Diptera: Culicidae) and La Crosse virus. III. Enhanced oral transmission by nutrition-deprived mosquitoes. *Journal of Medical Entomology*, 21, 249-256.
- Hanson, S.M., Lampman, R.L., Novak, R.J., et Purseglove, P.M. (1996). *Aedes albopictus* and *Ae. triseriatus* eggs survive waste tire processing. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 12, 728-729.

- Haramis, L.D. (1985). Larval nutrition, adult body size, and the biology of *Aedes triseriatus*.
In Lounibos, L.P., Rey, J.R. et Frank, J.H. (Ed.), Ecology of Mosquitoes : Proceedings of a workshop. Florida : Florida Entomology Laboratory.
- Haramis, L.D. (1983). Increased adult size correlated with parity in *Aedes triseriatus*. Mosquito News, 43, 77-79.
- Höfte, H., et Whiteley H.R. (1989). Insecticidal crystal proteins of *B. thuringiensis*.
Microbiological Reviews, 53, 242-255.
- Ignoffo, C.M., Garcia, C., Kroha M., et Couch, T.L. (1983). The effects of temperature and water on the insecticidal activity and spore viability of a wettable powder foundation of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*. Journal of the Kansas Entomological Society, 56, 88-92.
- Ikeshoji, T., et Mulla, M.S. (1970a). Overcrowding factors of mosquito larvae. 2. Growth-retarding and bacteriostatic effects of the overcrowding factors of mosquito larvae. Journal of Economic Entomology, 63, 1737-1743.
- Ikeshoji, T., et Mulla, M.S. (1970b). Overcrowding factors of mosquito larvae. Journal of Economic Entomology, 63, 90-96.
- Ikeshoji, T. (1965). The influence of larval breeding conditions on fecundity of *Culex pipiens fatigans* Wied. World Health Organ./Vector Contr. 135, 65.
- Jalil, M. (1972). Effect of temperature on larval growth of *Ae. triseriatus*. Journal of Economic Entomology, 65, 625-626.
- Juliano, S.A., et Stoffregen, T.L. (1994). Effects of habitat drying on size at and time to metamorphosis on the tree hole mosquito *Aedes triseriatus*. Oecologia, 97, 369-376.

- Koenekoop, R.K., et Livdahl, T.P. (1986). Cannibalism among *Aedes triseriatus* larvae. Ecological Entomology, 11, 111-114.
- Lacoursière, J.O., et Charpentier, G. (1988). Laboratory study of the influence of water temperature and pH on *B. thuringiensis* var. *israelensis* efficacy against black fly larvae (Diptera: Simuliidae). Journal of the American Mosquito Control Association, 4, 64-72.
- Léonard, P.M., et Juliano, S. (1995). Effect of leaf litter and density on fitness and population performance of the hole mosquito *Ae. triseriatus*. Ecological Entomology, 20, 125-136.
- Livdahl, T. (1982). Competition within and between hatching cohorts of a treehole mosquito. Ecology, 63, 1751-1760.
- Lord, C.C. (1998). Density dependence in larval *Aedes albopictus* (Diptera : Culicidae). Journal of Medical Entomology, 35, 825-829.
- Maire, A., Goudreau, R., et Bourassa, J.P. (1992). Effets, dans les pneus abandonnés, de la compétition intraspécifique et interspécifique entre stades larvaires d'*Ae. triseriatus* (Say) et *Culex restuans* Theobald (Diptera: Culicidae). Mémoire de la Société Royale Belge d'Entomologie, 35, 145-153.
- McCracken, I.R., et Matthews, S.L. (1997). Effects of *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* (*B.t.i.*) applications on invertebrates from two streams on Prince Edward Island. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 58, 291-298.
- McGaughey, W.H. (1989). Insect resistance to *Bacillus thuringiensis* δ -endotoxin. New Directions in Biological Control, 112, 1-16.
- Merritt, R.W. (1987). Do different instars of *Aedes triseriatus* feed on particles of the same size ? Journal of the American Mosquito Control Association, 3, 94-96.

- Mitchell, C.J., Haramis, L.D., Karabatsos, N., Smith, G.C., et Starwalt, V.J. (1998). Isolation of La Crosse, Cache Valley, and Potosi Viruses from *Aedes* mosquitoes (Diptera: Culicidae) collected at used-tire sites in Illinois during 1994-1995. Entomological Society of America, 35, 573-577.
- Moore, C.G., et Fisher, B.R. (1969). Competition in mosquitoes. Density and species ratio effects on growth, mortality, fecundity, and production of growth retardant. Annals of the Entomological Society of America, 62, 1325-1331.
- Morris, C.D., et Robinson, J.W. (1994). Distribution of mosquito larvae in a waste tire pile in Florida-An initial study. Journal of the American Mosquito Control Association, 10, 174-180.
- Munstermann, L.E., et Wasmuth, L.M. (1985). *Aedes triseriatus*. P. Singh et R. F. Moore (Eds.), Handbook of insect rearing: Vol. 2. (pp. 15-24). Amsterdam: Elsevier Science.
- Nadeau, M. (1990). Isolation et évaluation de mycètes pour le contrôle biologique des moustiques (Diptera: Culicidae) et des simulies (Diptera: Simuliidae) en zone tempérée. Thèse de maîtrise en Sciences de l'environnement. Université du Québec à Trois-Rivières.
- Nadeau, M.P., et Boisvert, J.L. (1994). Larvicidal activity of the entomopathogenic fungus *Tolypocladium cylindrosporum* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) on the mosquito *Ae. triseriatus* and the black fly *Simulium vittatum* (Diptera: Simuliidae). Journal of the American Mosquito Control Association, 10, 487-491.
- Nasci, R.S. (1988). Biology of *Ae. triseriatus* (Diptera: Culicidae) developing in tires in Louisiana. Journal of Medical Entomology, 25, 402-405.
- Nasci, R.S. (1986). Relationship between adult mosquito (Diptera: Culicidae) body size and parity in field populations. Environmental Entomology, 15, 874-876.

- Patrician, L.A., et DeFoliart, G.R. (1985). Lack of adverse effect of transovarially acquired La Crosse virus infection on the reproductive capacity of *Ae. triseriatus*. Journal of Medical Entomology, 22, 604-611.
- Paulson, S.L., et Hawley, W.A. (1991). Effect of body size on the vector competence of field and laboratory populations of *Aedes triseriatus* for La Crosse virus. Journal of the American Mosquito Control Association, 7, 170-175.
- Priest, F.G. (1992). Biological control of mosquitoes and other biting flies by *Bacillus sphaericus* and *B. thuringiensis*. Journal of Applied Bacteriology, 72, 357-369.
- Rivard, S.R., Côté, J.C., et Chung, Y.S. (1989). Comparaison des profils plasmidiques de mutants oligosporogènes chez *B. thuringiensis* var. *kurstaki* HD-1 après un traitement à l'ozone et à la nitrosoguanidine. Genome, 32, 660-666.
- Roberts, D. (1998). Overcrowding of *Culex sitiens* (Diptera: Culicidae) larvae: population regulation by chemical factors or mechanical interference. Journal of Medical Entomology, 35, 665-669.
- Rueda, L.M., Patel, K.J., Axtell, R.C., et Stinner, R.E. (1990). Temperature-dependant development and survival rates of *Culex quinquefasciatus* and *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). Entomological Society of America, 27, 892-898.
- Santé Canada. (1996). Surveillance des arbovirus – États-Unis Relevé des maladies transmissibles au Canada, 22 (1), 1-3.
- Savignac, R., et Maire, A. (1981). A simple character for recognizing second and third instar larvae of five canadian mosquito genera (Diptera: Culicidae). The Canadian Entomologist, 113, 13-20.

- Sinègre, G., Gaven B., et Jullien, J.L. (1981). Contribution à la normalisation des épreuves de laboratoire concernant des formulations expérimentales et commerciales du sérotype H-14 de *B. thuringiensis*. III- Influence séparée ou conjointe de la densité larvaire, du volume ou profondeur de l'eau et de la présence de terre sur l'efficacité et l'action larvicide résiduelle d'une poudre primaire. Entomologie Médicale et Parasitologique, 19, 157-163.
- Sinsko, M.J., et Craig, G.B.Jr. (1979). Dynamics of an isolated population of *Aedes triseriatus* (Diptera: Culicidae). I. Population size. Journal of Medical Entomology, 15, 89-98.
- Skovmand, O., Hoegh, D., Pedersen, H.S., et Rasmussen, T. (1997). Parameters influencing potency of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* products. Biological and Microbial Control, 90, 361-369.
- Skovmand, O., Thiery, I., Benzon, G.L., Sinègre, G., Monti, N., et Becker, N. (1998). Potency of products based on *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* : interlaboratory variations. Journal of the American Mosquito Control Association, 14, 298-304.
- Société québécoise de récupération et de recyclage. (1999). Recyc-Québec. <http://www.recyc-quebec.gouv.qc.ca/index.html>
- Suleman, M. (1982). The effects of intraspecific competition for food and space on the larval development of *Culex quinquefasciatus*. Mosquito News, 42, 347-356.
- Sumanochitrapon, W., Strickman, D., Sithiprasasna, R., Kittayapong, P., et Innis, B.L. (1998). Effect of size and geographic origin of *Aedes aegypti* on oral infection with dengue-2 virus. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 58, 283-286.
- Szumlas, D.E., Apperson, C.S., et Powell, E.E. (1996). Seasonal occurrence and abundance of *Ae. triseriatus* and other mosquitoes in a La Crosse virus-endemic area in western North Carolina. Journal of the American Mosquito Control Association, 12, 184-193.

- Tabashnik, B.E. (1994). Evolution of resistance to *Bacillus thuringiensis*. Annual Review of Entomology, 39, 47-79.
- Tabashnik, B.E., Groeters, F.R., Finson N., et Johnson, M. W. (1994). Instability of resistance to *Bacillus thuringiensis*. Biocontrol Science and Technology, 4, 419-426.
- Tabashnik, B.E., Cushing, N.L., Finson N., et Johnson, M.W. (1990). Field development of resistance to *Bacillus thuringiensis* in diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae). Journal of Economical Entomology, 83, 1671-1676.
- Trimble, R.M., et Smith, S.M. (1978). Geographic variation in development time and predation in the tree-hole mosquito, *Toxorhynchites rutilus septentrionalis* (Diptera: Culicidae). Canadian Journal of Zoology, 56, 2156-2165.
- Trpis, M. (1972). Development and predatory behavior of *Toxorhynchites brevipalpis* (Diptera: Culicidae) in relation to temperature. Environmental Entomology, 1, 537-546.
- Tsuda, Y., Suzuki, A., Takagi, M., et Wada, Y. (1997). Different response to larval crowding between 2 strains of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) from Japan and Thailand. Medical Entomology and Zoology, 48, 19-24.
- Undeen, A.H., et Becnel, J.J. (1994). A device for monitoring populations of larval mosquitoes in container habitats. Journal of the American Mosquito Control Association, 10, 101-103.
- Vorgett, J., Frommer, R.L., Gibbs P.H., et Anderson, L.M. (1988). Interpretation of density dependant data in comparisons of *B. thuringiensis* var. *israelensis* formulations. Journal of Entomological Science, 23, 150-154.

- Wada, Y. (1965). Effect of larval density on the development of *A. aegypti* (L.) and the size of adults. Quaestiones entomologicae, 1, 223-249.
- Walker, E.D. (1995). Effect of low temperature on feeding rate of *Aedes stimulans* larvae and efficacy of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* (H-14). Journal of the American Mosquito Control Association, 11, 107-110.
- Walker, E.D., Copeland, R.S., Paulson S.L., et Munstermann, L.E. (1987). Adult survivorship, population density, and body size in sympatric populations of *Ae. triseriatus* and *A. hendersoni* (Diptera: Culicidae) Journal of Medical Entomology, 24, 485-493.
- Wipfli, M.S., et Merritt, R.W. (1994). Effects of *Bacillus thuringiensis* on nontarget benthic insects through direct and indirect exposure. Journal of the North American Benthological Society, 13, 190-205.
- Wraight, S.P., Molloy, D.P., et Singer, S. (1987). Studies on the culicine mosquito host range of *Bacillus sphaericus* and *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* with notes on the effects of temperature and instar on bacterial efficacy. Journal of Invertebrate Pathology, 49, 291-302.
- Zaritsky, A., et Khawaled, K. (1986). Toxicity in carcasses of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*-killed *Aedes aegypti* larvae against scavenging larvae: implications to bioassays. Journal of the American Mosquito Control Association, 2, Pp. 555-559.